Centro de Investigación en Materiales
Avanzados, S. C.

“Caracterización fisicoquímica de una fibra de algodón teñida con grana carmín (*Dactylopius coccus* Costa*)* y tratabilidad biológica de las agua residuales generadas en el proceso”

Tesis

Que como requisito para obtener el Grado de

Doctor en Ciencias en Materiales

P r e s e n t a

Gabriela Arroyo Figueroa

Directores de Tesis:
Dr. Guillermo González Sánchez.
Dra. Graciela Ma. de la Luz Ruiz Aguilar.

Chihuahua, Chih., a 3 de junio del 2011

DEDICATORIAS

A mi Dios:
Por quién soy y existo.

A toda mi familia:
A quienes amo.

A mis Padres:
Porque me han enseñado el valor del trabajo.

A mis Hermanos
Hugo, Guadalupe, Gustavo, Gerardo:
Por su compañía y apoyo.

A mis sobrinos
Jaime Ramón, Ma. del Pilar, Diego, Julieta, Camila, Luciana:
Porque con su vida me han enseñado la alegría.

A mis Directores de tesis
Dr. Guillermo y Dra. Graciela Ma. de la Luz:
Por toda su ayuda durante el tiempo de realización del doctorado.

A mis compañeros de trabajo del Departamento de Ingeniería Agroindustrial:
Por todo su aliento para la realización de este trabajo

AGRADECIMIENTOS Y RECONOCIMIENTOS

Se hace un reconocimiento especial a los siguientes Asesores, quienes colaboraron en la realización de este trabajo:

Dr. Erasmo Orantia Borunda
Centro de Investigación en Materiales Avanzados.

Dr. Germán Cuevas Rodríguez
Departamento de Ingeniería Civil. Campus Guanajuato. Universidad de Guanajuato.

Dra. Refugio Rodríguez Vázquez
Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN.

Los autores agradecen el financiamiento de **CONACYT** del Gobierno del Estado de Guanajuato, a través de los Fondos Mixtos al proyecto denominado "*Aplicación del colorante natural grana del carmín, en el sector textil*", con clave GTO-04-C02-38.

Asimismo se agradece al **SNI-CONACYT** por el financiamiento al proyecto denominado "*Alternativa para el tratamiento de efluentes de la industria textil*", con clave CB3O070708.

Se agradece a la **Dra. Leticia López Martínez,** Departamento de Química. Campus Guanajuato. Universidad de Guanajuato, por su colaboración en el análisis de muestras.

INDICE

LISTA DE TABLAS v
LISTA DE FIGURAS vi

I. RESUMEN 1

II. ABSTRACT 2

III. INTRODUCCIÓN 3

III.1 LA GRANA CARMÍN Y SU APLICACIÓN EN TEXTILES 3
III.1.1 Antecedentes del colorante natural grana carmín 3
III.1.1.1 Colorantes y pigmentos 3
III.1.1.2 Colorantes naturales 3
III.1.1.3 La grana carmín 3
III.1.1.4 Aplicación de la grana carmín 5
III.1.2 Teñido de algodón con grana carmín 5
III.1.2.1 La fibra de algodón 5
III.1.2.2 Proceso de teñido 6
III.1.3 Parámetros de análisis en la tela teñida 9
III.1.3.1 Color y fuerza del color en la tela teñida 10
III.1.3.2 Solidez del color y caracterización de la tela teñida 12
III.2 TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE EFLUENTES TEXTILES 14
III.2.1 Efluentes textiles 14
III.2.2 Tratamiento de efluentes textiles 15
III.2.3 Tratamiento biológico 17
III.2.4 Hongos ligninolíticos 17
III.2.4.1 Especie Trametes versicolor (T. versicolor) 18
III.2.5 Hongos ligninolíticos en el tratamiento de efluentes 18
III.2.5.1 Especie Trametes en el tratamiento de efluentes 19

IV. HIPÓTESIS 22

V. OBJETIVOS 22

V.1 OBJETIVO GENERAL 22
V.2 OBJETIVOS PARTICULARES 22

VI. MATERIALES Y MÉTODOS 23

VI.1 TEÑIDO DE LA TELA DE ALGODÓN CON GRANA CARMÍN Y SOLIDEZ DEL COLOR 23
VI.1.1 Materiales y reactivos 23
VI.1.1.1 Determinación del porcentaje de ácido carmínico en la grana carmín 23
VI.1.2 Lavado, mordentado y teñido de la tela de algodón 24
VI.1.2.1 Lavado de la tela de algodón 25
VI.1.2.2 Mordentado de la tela 25
VI.1.2.3 Extracción del colorante 26
VI.1.2.4 Teñido de la tela de algodón 26
VI.1.3 Medición del color 26
VI.1.4 Cálculo de la fuerza del color 26
VI.1.5 Absorbancia del extracto de la grana y de la tela de algodón teñida 27
VI.1.6 Análisis de la tela mediante un microscopio electrónico 27
VI.1.7 Pruebas de solidez del color en la tela 27
VI.1.7.1 Solidez del color a los ácidos y álcalis 28
VI.1.7.2 Solidez del color a temperaturas altas 28
VI.1.7.3 Solidez del color al lavado doméstico 28
VI.1.7.4 Solidez del color a la luz artificial 28
VI.1.7.5 Solidez del color al frote en seco 28
VI.1.8 Obtención de los valores ΔL^*, Δa^*, Δb^* 29
VI.1.9 Escala de grises 29
VI.1.10 Pruebas de solidez del color en la tela de algodón teñida con colorantes sintéticos 30
VI.2 DECOLORACIÓN Y DEGRADACIÓN DEL EFLUENTE DE TEÑIDO CON GRANA CARMÍN POR EL HONGO LIGNINOLÍTICO 31
VI.2.1 Cultivo en medio sólido para determinar el efecto del efluente en el desarrollo del hongo 31

VI.2.2 Cultivo en medio líquido para determinar la decoloración del efluente por el hongo *31*
VI.2.3 Medición de peso seco del hongo, pH y porcentaje de decoloración *33*
VI.2.4 Caracterización del efluente *33*
VI.2.4.1 Determinación del porcentaje de eliminación (%E) 34
VI.2.5 Tratamientos preparados en medio líquido para sus análisis de degradación *34*
VI.2.6 Análisis de la degradación del extracto de la grana carmín contenido en el efluente *35*
VI.2.7 Cinética de degradación *35*
VI.2.8 Pruebas de toxicidad *35*
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 37
VII.1 TEÑIDO DE LA TELA DE ALGODÓN CON GRANA CARMÍN Y SOLIDEZ DEL COLOR 37
VII.1.1 Comportamiento del color, fuerza de color y absorbancia en función de la concentración de los mordientes *37*
VII.1.2 Caracterización de la tela *42*
VII.1.2.1 Tela original y tela lavada 42
VII.1.2.2 Tela original y tela premordentada 42
VII.1.2.3 Tela original y tela teñida 43
VII.1.3 Pruebas de Solidez del color *44*
VII.1.3.1 Solidez del color a ácidos y álcalis 44
VII.1.3.2 Solidez del color a altas temperaturas 46
VII.1.3.3 Solidez del color al lavado doméstico 46
VII.1.3.4 Solidez del color a la luz artificial 47
VII.1.3.5 Solidez del color al frote en seco 47
VII.1.4 Tendencia promedio en las pruebas de solidez *48*
VII.1.5 Solidez del color en la tela de algodón teñida con colorantes sintéticos *50*
VII.2 DECOLORACIÓN Y DEGRADACIÓN DEL EFLUENTE DE TEÑIDO CON GRANA CARMÍN POR EL HONGO LIGNINOLÍTICO 52
VII.2.1 Efecto del efluente en el desarrollo del hongo en medio sólido *52*
VII.2.2 Efecto del efluente en el desarrollo del hongo en medio líquido *53*

VII.2.2.1 Cultivo en medio líquido para determinar la decoloración del efluente por el hongo 53
VII.2.3 Análisis de los parámetros de los tratamientos preparados en medio líquido para su degradación *54*
VII.2.4 Caracterización del efluente al inicio y al final del tratamiento *57*
VII.2.5 Análisis de los cromatogramas de los tratamientos *58*
VII.2.6 Cinética de degradación del ácido carmínico por el hongo ligninolítico *61*
VII.2.7 Análisis de toxicidad del efluente *63*

VIII. CONCLUSIONES 65

IX. BIBLIOGRAFÍA 67

X. ANEXOS 76

X.1 PRODUCTOS OBTENIDOS DURANTE EL PERIODO DE DOCTORADO 76
X.1.1 Trabajos publicados *76*
X.1.1.1 Memorias en extenso 76
X.1.1.2 Memorias en congresos 77
X.1.1.3 Trabajos publicados en revistas 78
X.1.1.4 Trabajos publicados en libros 78
IX.1.5 Cursos curriculares *79*
IX.1.6 Direcciones de tesis de licenciatura *79*

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. *Principales mordientes utilizados en el teñido artesanal de fibras (Van de Vrande, 1988; Vigueras y Portillo, 2004).* *8*

Tabla 2. *Métodos para eliminación de color en los efluentes textiles (Escamilla, 2007).* *16*

Tabla 3. *Condiciones de los experimentos realizados para encontrar el mejor color en el teñido de algodón con grana carmín.* *25*

Tabla 4*. Diseño experimental para la decoloración del efluente de teñido de algodón en medio líquido, por el hongo ligninolítico T. versicolor CDBB-H-1051.* *32*

Tabla 5*. Experimentos realizados a partir del diseño experimental para la decoloración del efluente de teñido de algodón en medio líquido, por el hongo ligninolítico T. versicolor CDBB-H-1051.* *32*

Tabla 6*. Controles de los experimentos, para la decoloración del efluente de teñido de algodón en medio líquido, por el hongo ligninolítico T. versicolor CDBB-H-1051* *32*

Tabla 7*. Experimentos y control, realizados para la degradación de un efluente textil, en medio líquido con el hongo ligninolítico T. versicolor CDBB-H-1051* *34*

Tabla 8. *Evaluación del color por medio del colorímetro de la tela teñida de la serie de experimentos.* *37*

Tabla 9. *Resultados de la diferencia estadística de cada uno de los 4 experimentos de teñido, con respecto a los otros 3, para las coordenadas L*, a* y b* (.p≤0.05, α= 0.05).* *40*

Tabla 10*. Valores en la escala de grises, para las pruebas de solidez realizada a la tela de algodón teñida con el extracto de grana carmín.* *45*

Tabla 11*. Porcentaje de color perdido en la tela de algodón teñida con grana carmín y en la tela de algodón teñida con una tricotomía de colorantes sintéticos.* *51*

Gc. Grana carmín, Cs. Colorante sintético. α=0.05 ..... *51*

Tabla 12. *Caracterización del efluente de teñido de algodón con el extracto grana carmín, al inicio y al final del tratamiento 8 (W+G+F) con T. versicolor.* *58*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. *Estructura química del ácido carmínico contenido en las hembras adultas del insecto grana carmín.* *4*

Figura 2. *Cadenas de glucosa formando la celulosa, estructura principal de la fibra de algodón.* *6*

Figura 3. *Colores aditivos o de luz, cuya suma total es el blanco y colores sustractivos o sólidos, cuya suma es el negro.* *10*

Figura 4. *Escala CIELab. Sistema coordenado cartesiano definido por tres coordenadas colorimétricas L*, a* y b*. La coordenada L* puede tomar valores entre 0 y 100. La coordenada a*; si a* > 0 el tono va hacia el rojo, si a* < 0 el tono va hacia el verde. La coordenada b*; si b* > 0 el tono va hacia el amarillo, si b* < 0 el tono va hacia el azul.* *11*

Figura 5. *Fotografía que muestra al hongo T. versicolor, en su estado silvestre.* *18*

Figura 6. *Diagrama de flujo del proceso de teñido. Donde 1°, 2° y 3° se refiere a cada fase de mordentado, las cuales se realizan a diferentes tiempos de manera sucesiva.* *24*

Figura 7. *Escala de grises para determinación de variación de color entre pares.* *29*

Figura 8. *Color para las coordenadas a*, L* y b* de la tela de algodón teñida con grana carmín para los cuatro experimentos. Se muestra el comportamiento del tono al cambiar la concentración en los mordientes. Las barras representan la desviación estándar de tres replicas.* *38*

Figura 9. *Grafica que muestra los valores obtenidos en el cálculo de la fuerza del color (K/S), en función a la longitud de onda, para los cuatro experimentos.* *38*

Figura 10. *Espectro visible en la tela de algodón teñida para los cuatro experimentos, así como el espectro visible del extracto usado en el proceso de teñido en una dilución 1/10.* *39*

Figura 11. *Posible interrelación de los iones dentro de la tela de algodón de celulosa, las sales del mordiente y el extracto del colorante natural de cochinilla (ácido carmínico). La flechas indican algunos grupos probables que pueden formar quelatos con el ión metálico, al mismo tiempo unirse con algún posible grupo de la molécula de ácido carmínico.* *41*

Figura 12. *Micrografía electrónica de barrido para la tela de algodón lavada: A. 500X y B. 1000X y la tela original sin ningún proceso: C. 500X y D. 1000X. 42*
Figura 13. *Micrografía electrónica de barrido para la tela de algodón en el primer mordentado: A. 500X y B. 1500X y la tela original sin ningún proceso: C. 500X y D. 1000X. 43*
Figura 14. *Micrografía electrónica de barrido para la tela de algodón teñida: A. 500X y B. 1000X y la tela original sin ningún proceso: C. 500X y D. 1000X. 44*
Figura 15. *Grafica de ⊿a*, ⊿L* y ⊿b* muestra la tendencia de las diferencias de los tonos de las pruebas de solidez a: ácidos (A), álcalis (B). Las barras representan la desviación estándar de tres replicas de cada experimento. 45*
Figura 16. *Grafica de ⊿a*, ⊿L* y ⊿b* muestra la tendencia de las diferencias de los tonos de las pruebas de solidez a: temperatura 60°C (A), lavado doméstico (B). Las barras representan la desviación estándar de tres replicas de cada experimento. 46*
Figura 17. *Grafica de ⊿a*, ⊿L* y ⊿b* muestra la tendencia de las diferencias de los tonos de las pruebas de solidez a: luz artificial (A) y frote en seco (B). Las barras representan la desviación estándar de tres replicas de cada experimento. 48*
Figura 18. *Resultados promedio de ⊿L*, ⊿a*, y ⊿b*, para cada una de las pruebas: A. luz artificial (20h), B. frote en seco, C. álcalis, D. ácidos, E. lavado doméstico y F. temperatura de 60 °C. Las barras representan la desviación de las seis pruebas de solidez. 49*
Figura 19. *Crecimiento radial de T. versicolor CDBB-H-1051 en caja, en presencia de diferentes concentraciones de un efluente textil con grana carmín, en medio sólido. Las barras representan la desviación estándar de tres cajas. 52*
Figura 20. *Resultados obtenidos para el parámetro de la absorbancia para todos los tratamientos y controles. 54*
Figura 21. *Variación de parámetros durante la decoloración de un efluente textil con grana con el hongo T. versicolor. (A) Variación del peso seco del hongo, (B) variación del pH y (C) variación del % de decoloración. Las barras de error corresponden a la desviación estándar de tres replicas. Donde K= Medio Kirk modificado (50 %), F= Hongo (5 %), G= Glucosa (5 g/L) y W= Agua (50 %). 55*

Figura 22. *Relación entre el pH, peso seco y absorbancia a 494 nm, para el tratamiento 8 (W+G+F), en la decoloración de un efluente textil con grana carmín, en presencia del hongo T. versicolor, CDBB-H-1051. Las barras de error corresponden a la desviación estándar de tres replicas. Donde F= Hongo (5 %), G= Glucosa (5 g/L).* *56*
Figura 23. *Cromatogramas. A) Inicial. Experimentos a t=11 dias: B) 5 (K+F), C) 7 (K+G+F) y D) 8 (W+G+F). AC= Ácido carmínico, W= Agua, G= Glucosa, F= Hongo ligninolítico*..... *59*
Figura 24. *Cambio de color en las muestras de los experimentos: A) 5 (K+F), B) 7 (K+G+F) y C) 8 (W+G+F) en los tiempos 0, 1, 4, 6, 8, 11 días. K= Medio Kirk, W= Agua, G= Glucosa, F= Hongo ligninolítico.* *60*
Figura 25. *Cromatograma de la cinética de degradación del ácido carmínico contenido en el extracto de grana carmín en el Tratamiento 3 (W+G), con T. versicolor CDBB-H-1051. AC= Ácido carmínico, W= Water, G= Glucosa.* *61*
Figura 26. *Propuesta de los principales metabolitos de la degradación de la estructura del ácido carmínico presente en el extracto de grana carmín en el efluente, con T. versicolor. (Tomando como base la propuesta de Cajthaml et al. 2006).* *62*

I. Resumen

El color en los efluentes industriales pocas veces es considerado como una forma de contaminación a pesar de los daños que provoca, puede estar asociado a la presencia de compuestos tóxicos y grupos cromóforos o polímeros de alto peso molecular. Una forma de resolver este problema de contaminación es la sustitución de colorantes sintéticos por naturales. Un colorante óptimo para sustituir los colorantes sintéticos y ser usado de manera industrial, es el ácido carmínico, colorante natural, obtenido de secar hembras adultas del insecto *Dactylopius coccus* Costa (grana carmín), generalmente se emplea en el área textil de manera artesanal. Por lo que la finalidad de este trabajo fue implementar un proceso técnico, que permitiera impregnar la tela de algodón con el extracto de colorante natural grana carmín. Otro propósito, debido a la obtención de efluentes coloreados, fue decolorar el efluente emanado del proceso de teñido, esto por medio del hongo *Trametes versicolor* (*T. versicolor*) CDBB-H-1051.

Para el proceso de teñido de algodón con grana carmín, se realizaron ocho experimentos, en donde se cambio la concentración de los mordientes usados en cada etapa. De los ocho experimentos se tomaron los cuatro más representativos para su análisis en la tela teñida. Se determinó que el mejor experimento de teñido fue el que obtuvó los valores promedio de a* de 44.64 y en L* de 43.81, con el cual se logró el tono rojo más obscuro. Todos los experimentos se sometieron a pruebas de solidez. Con lo que se encontró una tendencia decreciente de la diferencia promedio de dichas pruebas, para todos los experimentos, en el siguiente orden: luz artificial > frote en seco > ácidos y álcalis > lavado doméstico > temperaturas altas.

Con la finalidad de observar si existía alguna diferencia microscópica en la superficie de la tela, entre la inicial con respecto a las diferentes etapas del proceso de teñido, se analizaron estas muestras en un microscopio electrónico de barrido. Se notó diferencia microscópica entre la tela original y la tela desde el momento que inicia y termina el proceso de teñido.

Para el experimento de decoloración del efluente de teñido de algodón con grana carmín, con el hongo *T. versicolor*, se establecieron ocho tratamientos de los cuales se seleccionaron los tres mejores y se realizó una cinética de decoloración y degradación. Se analizó pH, peso seco del micelio y porcentaje de decoloración a diferentes tiempos (0, 1, 4, 6, 8 y 11 días). El tratamiento donde se uso agua con glucosa como medio, obtuvo una decoloración de99.4±0.04 %. Se observo que el pH, el peso del micelio seco y decoloración resultaron correlacionados para lograr la mayor remoción de color. En el análisis de HPLC, se encontró que la cinética de degradación del ácido carmínico contenido en el extracto de la grana carmín fue de kd= 0.386 días^{-1}, se demuestra por medio de los cromatogramas que el hongo degrado el colorante y es responsable de su decoloración, se presenta una propuesta de degradación. Se logró establecer las condiciones de laboratorio para el teñido de algodón con grana carmín. Además se demostró que el hongo *T. versicolor* puede ser empleado para la decoloración y degradación del efluente del proceso de teñido con grana carmín. Lo que contribuirá a establecer estrategias para el desarrollo de tecnologías sustentables.

II. Abstract

The color in industrial effluents is rarely considered as a form of pollution despite the damage it causes; besides it may be associated with the presence of toxic compounds and chromophores or polymers of high molecular weight. One way to solve this pollution problem is the replacement of synthetic dyes by natural ones. An optimal colorant to replace the synthetic dyes and that can be used industrially, is the carminic acid, a natural colorant, which is obtained by drying adult females of the insect *Dactylopius coccus* Costa (cochineal). It is generally used in the textile area in a handcrafted way. Therefore, the purpose of this research work was implementing a technical process that could permeate the cotton fabric with the extract of the natural colorant cochineal. Another purpose, due to the procurement of colored effluents was discoloring the effluent emanated from the dyeing process. This was tried by means of the fungus *Trametes versicolor* (*T. versicolor*) CDBB-H-1051.

For the process of cotton dyeing with cochineal, eight experiments were carried out, in which the concentration of the mordants used in every stage has been modified. From the eight experiments, the four most representative experiments were taken for analysis in the dyed fabric. It was determined that the best dyeing experiment was the one got the average values in a* of 44.64 and in L* of 43.81, with which a darkest hue red was obtained. All the experiments were submitted to colour fastness tests. So, it was found out a decreasing tendency in the average difference in such tests, for every experiment, in the next order: artificial light > dry rubbing > acid and alkaline solutions > household washing > high temperatures.

With the purpose of noticing if there could be any microscopic difference in the surface of the fabric, among the initial stage with respect to the different stages in the dyeing process; these samples were analyzed in a scanning electron microscope. It was noticed one microscopic difference between the original fabric and the fabric used since the moment that dyeing process begins and ends.

For the experiment of effluent discoloration from cotton dyeing with cochineal, by means of the fungus *T. versicolor*, were established eight treatments whose best three were selected, besides there was a discoloration and degradation kinetics. It was analyzed pH, dry weight of mycelium and discoloration percentage at several times (0, 1, 4, 6, 8 and 11 days). The treatment where water with glucose was used as a medium got a discoloration of 99.4±0.04 %. It was observed that the pH, dry weight of mycelium and discoloration had a correlation to achieve the maximum color removal. In the analysis of HPLC, it was discovered that the degradation kinetics in the Carminic acid contained in the extract of cochineal was kd= 0.386 $days^{-1}$. It was also demonstrated by means of the chromatograms that the fungus degraded the colorant and it is responsible for its discoloration and a proposal of degradation has been presented. It was possible to establish the laboratory conditions for the cotton dyeing with cochineal. It has also been shown that the fungus *T. versicolor* can be used for discoloration and degradation of the effluent in the process of dyeing with cochineal. This will help to develop strategies for the development of sustainable technologies.

III. Introducción

III.1 La grana carmín y su aplicación en textiles

III.1.1 Antecedentes del colorante natural grana carmín

III.1.1.1 Colorantes y pigmentos

Muy frecuentemente los términos pigmentos y colorantes se usan indiscriminadamente, aunque existe diferencia entre ambos. Se define como pigmento a las sustancias insolubles, las cuales comprenden una gran variedad de estructuras orgánicas poli-condensadas (aparte de pigmentos inorgánicos), que requieren de aglutinantes para fijarse. Se preparan por precipitación de un colorante sobre un sustrato reactivo, por ejemplo, sales de aluminio (Polar, 2009). Los pigmentos no son afectados física o químicamente por el medio al cual se incorporan. La diferencia fundamental entre colorantes y pigmentos es su solubilidad (Polar, 2009, Hollen *et al*., 2005). Para el área textil los pigmentos son partículas de color insoluble que se sostienen sobre la superficie de una tela por medio de un agente espesante. Cualquier color puede usarse en cualquier fibra, ya que los pigmentos se sostienen en forma mecánica. Los colorantes en cambio son partículas pequeñas solubles en agua o en algún vehiculo para penetrar en la fibra. Las partículas que no han sido disueltas permanecen en el exterior con lo que los colores presentaran baja solidez (Hollen *et a*l., 2005).

III.1.1.2 Colorantes naturales

Los colorantes naturales por su origen se clasifican en (Vigueras y Portillo, 2004): 1) Vegetales, de estos se encuentran los carotenoides, flavonoides, antocianinas, betalainas, clorofilas. 2) Animales, ácido carmínico y ácido Kérmesico. 3) Minerales. Por su estructura los colorantes naturales animales se encuentran entre los pigmentos quinónicos ya que estos compuestos están agrupados en benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas y quinonas poli-condensadas. Las antraquinonas constituyen el grupo más numeroso de las quinonas naturales. El ácido carmínico conocido químicamente como el compuesto orgánico ácido antraquinon-7-glucopiranósil-3, 5, 6, 8-tetrahidroxi-1-metil-2-carboxílico, cuya formula es $C_{22}H_{20}O_{13}$, forma parte del grupo de las antraquinonas (Gibaja, 1998) (Figura 1). Este ácido se encuentra en las hembras adultas del insecto popularmente llamado grana cochinilla, este nombre se le dio como resultado de una confusión, durante el tiempo de la Colonia, ya que algunos creyeron que era una semilla de un vegetal (Dahlgren, 1990). En este texto al insecto se le denomina grana carmín.

III.1.1.3 La grana carmín

La grana carmín es un insecto que se hospeda en el nopal (*Opuntia ficcus indica*), el cual es usado como colorante natural. Este colorante fue uno de los principales aportes del México prehispánico al mundo (Del Río, 2006; Sahagún, 1992). Se reconocen dos

tipos de este insecto, uno denominado grana fina y otra grana silvestre. La grana carmín conocida como fina o cultivada tiene el nombre científico *Dactylopius coccus* Costa (Vigueras y Portillo, 2001). La grana silvestre esta conformada por el resto de las especies *Dactylopius*, siendo esta más agresiva para el nopal, además de que compite con la grana fina (Vigueras y Portillo, 2001).

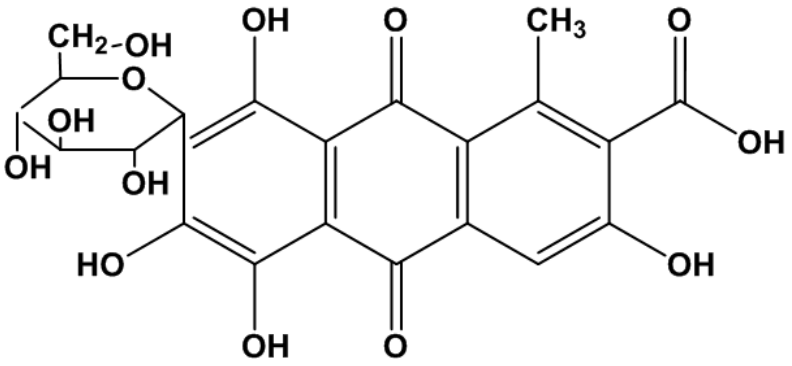

Figura 1. Estructura química del ácido carmínico contenido en las hembras adultas del insecto grana carmín.

No se sabe exactamente cuando inicia el cultivo de la grana fina y su uso, se cree que en México se remonta probablemente al período Tolteca, del siglo X de nuestra era (Vigueras y Portillo, 2001). En la Biblia se habla de ella en, Is 1,18 (Vigueras y Portillo, 2001). Las fuentes prehispánicas de la grana carmín son la Matrícula de tributos y las relaciones geográficas del siglo XVI, para los lugares productores y la obra de Fr. Bernardino de Sahún para los aspectos de elaboración y comercio (Dahlgren, 1990). Desde fines del siglo XVI hasta el principio del siglo XIX los tintes de grana carmín, añil y palo de Campeche se cultivaron, aplicaron y exportaron por cantidades importantes (Arroyo, 2008).

En los códices y publicaciones coloniales aparecen los colores rojos, además de que se describe como los contribuyentes pagaban a Moctezuma tributos de zurrones de grana, además del uso artesanal de la grana en el México Prehispánico (Del Río, 2006). Estos escritos antiguos son de especial importancia para apoyar el conocimiento general de la grana carmín. De estas fuentes se sabe que los Mixtecos le denominaron induco y los Zapotecos *bi-aa ó bi-yaa* (Piña, 1977). Los Aztecas conocieron muy bien la grana carmín, inclusive sabían de las diferencias entre la grana fina (grana carmín) y la grana silvestre, mismas que en náhuatl recibieron los nombres de *nocheztli* e *ixquimiliuhqui* respectivamente (Sahagún, 1829). Desde tiempos precolombinos la grana carmín ya se usaba para teñir prendas de un hermoso color rojo carmín el cual indicaba poder y soberanía entre las tribus de la época. En el tiempo de la colonia la vida giraba alrededor de este preciado colorante (Dahlgren, 1990), esto se ve representado en el mural de Ocampo, el cual se encuentra en Oaxaca, en donde se muestra el cultivo del insecto, su recolección, la forma en que era vendida (panecillos) y su aplicación tanto

en textiles, pinturas, murales, etc. Los españoles se encontraron con el colorante obtenido de la grana e intensificaron las zonas de cultivo en Tlaxcala, Puebla y Yucatán y posteriormente en el estado de Oaxaca (Vigueras y Portillo, 2001). Hasta llegar a ocupar el tercer lugar de las exportaciones de México después del oro y la plata (Vigueras y Portillo, 2001; Pérez, 2001).

III.1.1.4 Aplicación de la grana carmín

Con la aparición de los colorantes sintéticos en 1856, los colorantes naturales fueron desapareciendo (Bechtold *et al*., 2006; Del Río, 2006; Cristea y Vilarem, 2006; Vigueras y Portillo, 2001). Las causas principales fueron que con los colorantes sintéticos se podían obtener una gran gama de colores, con una buena estabilidad a un costo razonable (Bechtold *et al*., 2006; Cristea y Vilarem, 2006). Esto dio pauta para reemplazar los colorantes naturales, de entre ellos la grana carmín. Durante la segunda mitad del siglo XIX el cultivo del insecto decayó así como la aplicación del insecto, llegando a su punto más bajo en el periodo comprendido entre 1805 a 1818 (Pérez, 2001). Sin embargo, desde los años sesenta ha sido muy cuestionada la utilización de ciertos colorantes sintéticos en las industrias, sobre todo de aquellos que tienen más contacto con el ser humano (Vigueras y Portillo, 2001). Hoy en día existe un gran interés por volver a utilizar los colorantes naturales, debido a que no son nocivos para el ser humano y no contaminan el medio ambiente (Nagia y EL-Mohamedy, 2007; Del Río, 2006; Vigueras y Portillo, 2001). Estos colorantes son más amigables con el medio ambiente, presentan una mejor biodegradabilidad y generalmente tienen una alta compatibilidad con la naturales, comparados con los colorantes sintéticos (Nagia y EL-Mohamedy, 2007). Por lo que se cree que el extracto colorante de la grana carmín puede ser introducido nuevamente a la industria textil, ya que puede ser utilizado sin restricción alguna debido fundamentalmente que es inocuo para el ser humano (Vigueras y Portillo, 2001). Esto dado que no es tóxico, ni actúa como agente carcinógeno (Vigueras y Portillo, 2001). Además de que es uno de los pocos colorantes aprobados por instituciones mundiales de salud, siendo autorizado su uso como pigmento textil (Vigueras y Portillo, 2001). Asimismo presenta algunas propiedades como su estabilidad a la luz, a los tratamiento térmicos y a la oxidación (Gibaja, 1998), excelente coloración y cambios de color con soluciones ácidas y alcalinas, además de su fácil manejo (Vigueras y Portillo, 2001). Produce una amplia gama de colores desde anaranjado hasta púrpura pasando por el rojo (Takahashi, 2003). Asimismo presenta colores homogéneos en fibras naturales (Llanderal *et al*., 2008).

III.1.2 Teñido de algodón con grana carmín

III.1.2.1 La fibra de algodón

Las fibras se clasifican en fibras naturales, sintéticas y artificiales, de entre las fibras naturales se encuentran aquellas que se obtienen de semilla de tallos o de hojas (Hollen *et al*., 2005). El algodón es una fibra vegetal que se obtiene de semillas, por lo que es una fibra celulósica (94% de celulosa), y dado que la unidad básica de la

molécula de la celulosa es la glucosa, el algodón esta constituido por una gran cantidad de cadenas de glucosa, polímetro de azúcar (Figura 2). Por lo que su reactividad química esta relacionada a los grupos hidroxilo u oxidrilo (-OH), que constituyen la unidad básica de la glucosa (Hollen *et al*., 2005). La estructura física que caracteriza a esta fibra son sus convoluciones o dobleces las cuales producen un torcido formando una ondulación natural (Hollen *et al*., 2005).

El algodón es una planta del género *Gossypium* que muchos años antes del descubrimiento de América los indígenas cultivaban, cosechaban y procesaban (Arroyo, 2008). Las especies cultivadas *G. herbaceum*, *G. hirsutum* y *G. barbadense*, producen fibras cortas, medianas y largas respectivamente (Vigueras y Portillo, 2004). El algodón es nativo de México donde se ha cultivado desde que se tiene conocimiento (Takahashi, 2003). Los materiales sintéticos han sustituido notablemente a las fibras de origen vegetal y animal para la fabricación de textiles (Esparza. 1999). Sin embargo muchas fibras naturales se siguen utilizando, en especial el algodón ya que tiene un mayor uso a nivel mundial (CANAINTEX, 2002). Además de ser una fibra popular debido a su durabilidad, bajo costo y su uso practico (Hollen *et al*., 2005; Kamel, 2005). También se debe considerar que la tela de algodón unida al colorante natural puede proteger al ser humano de los rayos ultravioleta (Sarkar, 2004). A pesar de todas las cualidades que presenta el algodón, poco se sabe sobre los procesos de teñido con colorantes naturales, además de la dificultad que presenta con respecto a otras fibras naturales como la lana, debido a que la cantidad que se absorbe de colorante es menor (Tsatsaroni y Liakopoulou, 1995). Las fibras animales contienen grasas cuyos iones hidroxilos permiten una mejor fijación del colorante natural (Vigueras y Portillo, 2004; Tsatsaroni y Liakopoulou, 1995). En contraparte la fibras vegetales requieren de un mayor tiempo de mordentado, siendo más difícil el teñido de las fibras vegetales (Arroyo, 2008). Por otro lado la zona del Bajío en Guanajuato, México, es una zona textil que emplea grandes cantidades de algodón en sus procesos. Sin embargo, los tipos de colorantes que emplean son sintéticos, con los consecuentes daños al medio ambiente al carecer de tratamientos adecuados.

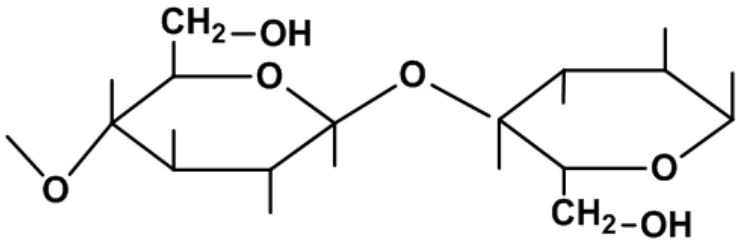

Figura 2. Cadenas de glucosa formando la celulosa, estructura principal de la fibra de algodón.

III.1.2.2 Proceso de teñido

Desde tiempos antiguos se conocían procedimientos para colorear las fibras. La práctica del teñido de telas desde hace millones de años ha sido una de las

aplicaciones más importantes de los colorantes naturales (Polar, 2009). En las antiguas culturas Mesopotámicas, Egipto e India se practicó el teñido de fibras (Arroyo, 2008). Las muestras más antiguas de tejidos coloreados datan de aproximadamente 1500 a.C.; sin embargo, hay evidencias de la aplicación de colorantes a telas desde mucho antes entre los pueblos egipcios, babilonios, hebreos, hindúes y chinos (Polar, 2009). La actividad de teñir esta íntimamente relacionada con el medio ambiente, ya que los colorantes naturales se obtienen de plantas, flores, frutos y animales (Arroyo, 2008). Según un manuscrito del año 1548, agua en una vasija, movimiento, fuego, alumbre y plantas eran los requisitos esenciales para colorear una fibra textil con colorantes naturales (Van de Vrande, 1988). Para fijar un colorante en fibras textiles y otros materiales se requiere del proceso de teñido, de forma que el colorante se convierta en parte integrante de la fibra o del material. Para que una tela tenga color, el colorante debe penetrar en la fibra y combinarse químicamente con ella o bien quedarse atrapado dentro de ella. Las fibras que se tiñen con facilidad son las absorbentes que tienen en sus moléculas grupos reactivos afines al colorante, dichos grupos reaccionan con las moléculas del colorante. El colorante reacciona primero con las moléculas de la superficie de la tela. La humedad y el calor hinchan las fibras por separado haciendo que las cadenas moleculares se separen de manera que haya más grupos reactivos expuestos para reaccionar con el colorante. Durante el secado, las cadenas se juntan nuevamente, atrapando el colorante en las fibras. Las fibras de celulosa, como es el caso del algodón, son absorbentes debido a los muchos grupos oxidrilo u Hidroxilo (-OH), aunque muchos de los colorantes no se combinan químicamente. Los textiles pueden teñirse durante la etapa de fibra, hilo o tela, dependiendo de los efectos del color que se desee o de la calidad y/o uso final de la tela (Hollen *et al.*, 2005). El proceso general de teñido esta compuesto por cuatro fases fundamentales para cualquier proceso de teñido las cuales ocurren de manera simultánea (Tlapanochestli, 2006; Taranto *et al*., 2003): 1) Penetración y difusión del colorante disuelto en agua, en la superficie de la fibra; 2) Adhesión del colorante por la superficie exterior de la fibra; 3) Difusión del colorante de la capa superficial al interior de la fibra en dirección al centro; y 4) Fijación del colorante en la superficie interior de la fibra. Dentro del proceso de teñido la mayoría de los tintes naturales requieren de ciertos fijadores o asistentes para poder teñir, estas substancias son denominadas mordientes, mismas que pueden ser de origen natural o químico (Shanker y Vankar, 2006; Gutiérrez y Díaz, 2002; Vigueras y Portillo, 2001).

En la antigüedad los mordientes que se usaron fueron sustancias naturales, por ejemplo las agallas de roble o encino, barro negro, cal, cenizas, alumbre, barro negro de olor fétido, lejía (agua pasada por ceniza), nejayote (agua en la que se coció el maíz), orines de humano y de animales, tequezquite, sal, pulque, hojas de piñón. También se usaron algunas semillas, hojas, cortezas y maderas con alto contenido de taninos (nacascolotl, guamúchil y timbe), igualmente estos últimos se usaron como entonadores del color (Arroyo, 2008).

En la actualidad en el teñido artesanal se usan mordientes químicos, algunos obtenidos de sustancias naturales y están concentrados y puros (Arroyo, 2008). En la Tabla 1 se presenta una clasificación de los mordientes tradicionales, empleados en el teñido

artesanal de fibras. El término mordiente es aplicado a cualquier sustancia de origen natural o sintético que sirve para fijar el colorante en la fibra (Gutiérrez y Díaz, 2002). Por lo que una etapa importante en el proceso de teñido es el mordentado de la tela (Del Río, 2006). Esta etapa se utiliza para fijar el color en la tela de algodón y se puede realizar antes o después del teñido (Burkinshaw y Kurmar, 2009; Del Río, 2006; Cristea y Vilarem, 2006). El mordentado consiste en agregar el mordiente en agua caliente junto con la fibra que puede estar o no teñida (Del Río, 2006). El mordentado se obtiene por un proceso químico que puede ser ácido o alcalino, por lo que es importante conocer el pH de los mordientes, ya que este indicará el grado de acidez o alcalinidad del baño (Arroyo, 2008).

Tabla 1. Principales mordientes utilizados en el teñido artesanal de fibras (Van de Vrande, 1988; Vigueras y Portillo, 2004).

Ácidos	Formula	Características
Ácido acético	$C_2H_4O_2$	Líquido incoloro
Acido oxálico	$C_2H_2O_4$	Sólido, cristales blancos
Ácido tartárico	$C_4H_6O_6$	Sólido, polvo blanco
Acido clorhídrico	HCl	Líquido incoloro
Acido sulfúrico	H_2SO_4	Líquido aceitoso ambarino
Acido tánico	$C_{76}H_{52}O_{46}$	Sólido blanco
Sales minerales		
Alumbre	$KAl(SO_4)_2{\cdot}12H_2O$	Sólido transparente
Dicromato de potasio	$K_2Cr_2O_7$	Sólido anaranjado intenso
Cloruro de estaño	$SnCl_2.2H_2O$	Sólido, cristales blancos
Sulfato de cobre	$CuSO_4$	Polvo verde
Hidrosulfito sódico	$Na_2S_2O_4$	Sólido blanco
Carbonato de calcio	$CaCO_3$	Polvo blanco
Hidróxido sódico	NaOH	Polvo blanco
Bases		
Amoniaco	NH_3	Líquido
Sulfato de fierro	$FeSO_4$	Sólido, cristales verdes
Bicarbonato sódico	$NaHCO_3$	Sólido, blanco cristalino
Carbonato de sodio	Na_2CO_3	Sólido blanco
Dicromato de potasio	$K_2Cr_2O_7$	Sólido anaranjado intenso

Para el caso del teñido con grana carmín se puede aplicar alguno de los tres métodos reportados por Del Río, (2006): 1) Método directo o meta-mordentado**,** la fibra se introduce directamente al tinte; 2) Pre-mordentado**,** la fibra se introduce sin teñir, en una solución de agua tibia y mordiente; c) Pos-mordentado**,** la fibra previamente teñida y/o premordentada se sumerge en una solución de agua tibia y mordiente. Este último procedimiento tiene por objeto cambiar la tonalidad del baño o reforzar la solidez al lavado. Todos estos métodos se utilizan actualmente como técnicas tradicionales o teñido artesanal. Para introducir nuevamente los colorantes naturales y en específico la

grana carmín a los procesos industriales, se requiere de una serie de estudios y adaptaciones por ejemplo (Bechtold *et al*., 2007): 1) Adaptar los procesos usados para el teñido con colorantes naturales, al equipo de la industria moderna. 2) Seleccionar los materiales óptimos del proceso (mordientes), que permitan obtener una buena estabilidad en el color. 3) Determinar si se puede surtir la cantidad requerida de colorante para llevar a cabo el proceso a nivel industrial. Otros puntos importantes en la introducción de colorantes naturales en la industria textil, es la estandarización de los procesos y la calidad final del producto obtenido (Bechtold *et al*., 2007).

Un proceso de teñido tradicional que es usado para el teñido artesanal de la fibra de algodón y otras fibras vegetales con grana carmín, es el siguiente (Vigueras y Portillo, 2004): I.- Etapa de Mordentado; 1) Pesar la fibra en seco, 2) Lavar la fibra con jabón neutro y agua tibia, 3) Agregar el alumbre en un recipiente no reactivo, 4) Dejar reposar por tres días, 5) Depositar la fibra húmeda, 6) Calentar a punto de ebullición de 15 a 30 min. 2.- Etapa de Teñido; 1) Agregar a la fibra mordentada en agua suficiente con el extracto de cochinilla (grana carmín), 2) Calentar a punto de ebullición de 15 a 30 min., 3) Enjuagar la fibra sin exprimir.

Para el teñido se utiliza el extracto de la grana carmín, este se obtiene macerando el insecto seco (hembra adulta del insecto), con agua. El procedimiento tradicional para obtener el extracto de la grana carmín es el siguiente (vigueras *y* Portillo, *2004*): 1) Moler el insecto seco, 2) Macerar en poca agua y dejar reposar por un día, 3) Hervir el macerado obtenido durante 15 a 30 min, 4) Enfriar y colar mediante un paño de algodón, 5) Finalmente repetir el procedimiento hasta agotar el tinte del residuo. Otro proceso de pre-mordentado para el teñido artesanal de algodón con grana del carmín mediante es el propuesto por Tlapanochestli, (2006): 1) Se obtiene el extracto de la grana, dejando macerar en agua y llevando hasta ebullición; 2) Se realiza un lavado de la fibra de algodón para que pueda fijarse más fuertemente el color en la tela; 3) Se usa el método de pre-mordentado con alumbre y carbonato de sodio, antes del teñido; y 4) El teñido se lleva a cabo a altas temperaturas para finalmente plancharse. En algunos otros procesos de teñido artesanal, la grana carmín seca y molida se pone a remojar en agua y se deja en reposo durante dos días, en este caso esta mezcla se vacía directamente al recipiente donde se realizará el teñido y se deja hervir por 20 min, para posteriormente introducir la fibra húmeda, en los casos necesarios ya mordentada (Arroyo, 2008).

III.1.3 Parámetros de análisis en la tela teñida

Para usar los colorantes naturales en la industria textil, se necesita obtener una buena calidad en la tela teñida, además de la estandardización del producto final. Se requiere que el colorante natural pueda competir en la estandarización alcanzada hoy en día por los colorantes sintéticos. Los parámetros que pueden considerarse para la calidad de la tela teñida con grana carmín, pueden ser el análisis de color y fuerza de color, así como la solidez del color en la tela teñida y por último su caracterización. Tanto los

parámetros como los procedimientos de análisis deben de fijarse y estandarizarse (Bechtold *et al*., 2006).

III.1.3.1 Color y fuerza del color en la tela teñida

El color es una propiedad de los materiales y una característica de los objetos que permite diferenciarlos entre sí. Lo primero que mencionamos cuando se nos pide una descripción es el color (Polar, 2009). Sin el color es difícil identificar los objetos (Arroyo, 2008). Esta propiedad ha sido parte de la historia del ser humano y es por ello que la encontramos en el arte, en las vestimentas, en las paredes de las viviendas. Incluso se habla de que es posible curar a través del color, mediante la cromoterapia (Polar, 2009).

Desde la más remota antigüedad se han hecho esfuerzos por entender qué son los colores (Moyssén, 2006). Antiguamente el color tenía un significado mítico o religioso, de rango y origen, además había colores que determinaban el rango social (Arroyo, 2008). El color rojo por ejemplo se asociaba a conceptos como resurrección, fertilidad y luz (Arroyo, 2008). La experiencia del color atañe prácticamente a todo el mundo, todo lo que nos rodea esta colmado de una gama infinita de colores. La ciencia de los colores es muy grande puesto que toma parte en ella la ciencia de la luz, debido a que ambas se complementan. El color es luz, sin luz no hay color (Arroyo, 2008). Dado que los colores son generados mediante sustancias químicas que interactúan con la luz (Moyssén, 2006). Existen por lo tanto una gran cantidad de teorías de la luz y color, desde la edad media hasta nuestros días, una de las principales es la de Newton acerca de la descomposición de la luz blanca en sus componentes cromáticos, generando ocho tonos diferentes. Durante el siglo XIX, Maxwell estableció los colores aditivos primarios como el rojo, verde y azul. Los colores se dividen en colores aditivos o de luz y los colores sustractivos o sólidos (Figura 3) (Moyssén, 2006).

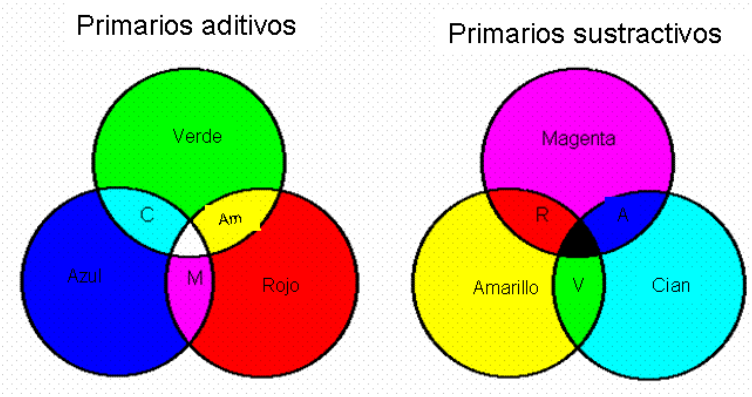

Figura 3. Colores aditivos o de luz, cuya suma total es el blanco y colores sustractivos o sólidos, cuya suma es el negro.

El color ha sido esencial para muchas industrias incluyendo la industria textil, existen actualmente normas internacionales que permiten estandarizar el color, las cuales se basan en ciertos espacios de colores. A lo largo de la historia se han ideado métodos para cuantificar y expresar el color, inicialmente estos métodos fueron matemáticos con formulas complejas, esto hacia difícil la comunicación y la exactitud del color. Los métodos para medir el color intentan expresar el color numérico de una manera más fácil. En 1905 el artista Americano A. H. Munsell ideo un método para expresar los colores clasificando estos en tonalidad, luminosidad y saturación (Konica, 1998). Esto para la comparación con otras muestras, más adelante este sistema se actualizo, expresando el color con la combinación de las letras (H V/C) en términos de su tonalidad (H), valor (V) y cromos (C), evaluando visualmente con las cartas de color de Munsell (Konica, 1998). En 1930 nació en Bélgica la Comisión Internacional de Iluminación (CIE), en donde se discuten los asuntos relacionados con la ciencia, la tecnología y el arte en los campos de la luz y la iluminación. En el se desarrollan estándares básicos y procedimientos de metrología para la iluminación reconocidos por la ISO (Organización Mundial de Estandarización) (Moyssén, 2006). Algunos de los métodos para expresar color desarrollados por la CIE, fueron el primero en 1931 basado en el espacio tri-cromático XYZ y el segundo ideado en 1976, el espacio de color L* a* b*, el cual proporciona una uniformidad en las diferencias de color (Konica 1998). El color puede determinarse actualmente por algunos aparatos como el Colorímetro, que proveen dichos espacios. El espacio CIELab fue desarrollado por Richard Hunter a principios de los años 40 (Maldonado, 2005). El uso del asterisco es para diferenciar el sistema de la CIE de aquel de Hunter (Maldonado, 2005). El espacio CIELab es un sistema coordenado cartesiano definido por tres coordenadas colorimétricas L*, a* y b*, de magnitudes adimensionales (Figura 4).

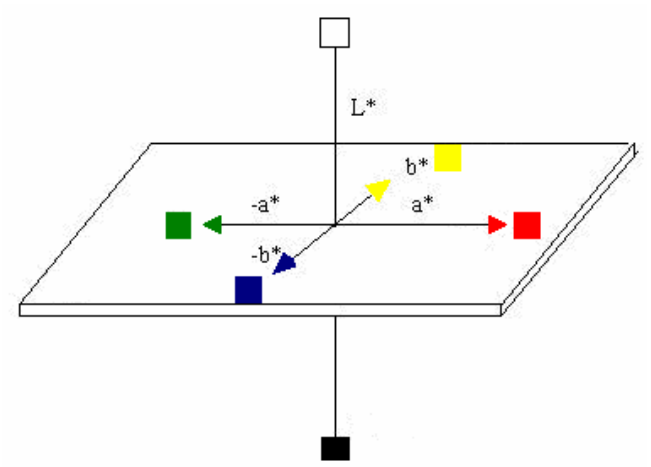

Figura 4. Escala CIELab. Sistema coordenado cartesiano definido por tres coordenadas colorimétricas L*, a* y b*. La coordenada L* puede tomar valores entre 0 y 100. La coordenada a*; si a* > 0 el tono va hacia el rojo, si a* < 0 el tono va hacia el verde. La coordenada b*; si b* > 0 el tono va hacia el amarillo, si b* < 0 el tono va hacia el azul.

Dado que la coordenada L* nos muestra el nivel de claridad del color en la tela teñida, en un rango de 0-100, se puede decir que mientras más próxima a cero este la coordenada L*, más oscuro es el tono del color en la tela. En cuanto a la coordenada a*, muestra la tendencia del color al rojo siendo números mayores a cero o hacia el verde siendo números menores a cero. Por tanto mientras más positivo sea la coordenada en a* el color de la tela estará más cercano al color rojo (Shanker y Vankar, 2007; Michael *et al*., 2003). El espacio de color CIELab es el más utilizado en la actualidad a nivel mundial en todos los campos donde haya que medir objetos coloreados (Maldonado, 2005, Konica 1998).

La fuerza del color tiene que ver con la luz que llega a los objetos, la percepción de los colores depende totalmente de la existencia de la luz, pues un cuerpo no hace sino reflejar la cantidad de luz que llega a el. Cuando la luz toca un objeto, ocurren una o más cosas relacionadas con el color, entre ellas (Moyssén, 2006): a) Transmisión, referente a la cantidad de luz que puede atravesar un cuerpo, b) Absorción, parte de la luz también puede ser absorbida o perdida como luz visible y convertida en calor, c) Refracción, la luz tiene una dirección que al tocar el objeto enfrenta una resistencia por la densidad y composición del mismo, lo que hace que cambie la dirección del haz luminoso. d) Reflexión, al llegar el haz de luz a un cuerpo la luz puede ser refractada, o parte de ella puede ser absorbida y convertida en calor, pero el resto será reflejado en todas direcciones. Por lo tanto el color de cada material depende de la cantidad de luz, del tipo de refracción y de absorción. La fuerza de color denominada K/S, es la relación entre el coeficiente de absorción (K), y el coeficiente de dispersión (S). La fuerza de color a su vez esta correlacionada con la reflexión de la luz, por medio de la ecuación de Kubelka-Munk (Nagia y El-Mohamedy, 2007; Shanker y Vankar, 2007; Vankar *et al*., 2006). La reflexión de la luz por los objetos es determinada por medio de un espectrofotómetro en relación con una longitud de onda del espectro visible (400 a 700 nm) (Konica, 1998).

La diferencia entre la medición de color y la fuerza de color estriba en el uso de los aparatos, el primero es determinado con un colorímetro y el segundo por un espectrofotómetro, ya que con el primero se obtiene las lecturas de los espacios CIELab y con el segundo se obtienen las mediciones de reflectancia (ISO 105, 2007). Los instrumentos tricromáticos como el colorímetro, tienen las ventajas de ser portátiles, por su tamaño pequeño. Se utilizan principalmente para la diferencia de color. Los instrumentos espectro fotométricos proporcionan alta exactitud y la capacidad de medir colores absolutos. Se utilizan generalmente para investigación (Konica, 1998).

III.1.3.2 Solidez del color y caracterización de la tela teñida

La solidez del color se entiende como la resistencia del color en materiales textiles, a los diversos agentes a los cuales estos materiales se pueden exponer durante la fabricación o durante su uso (ISO 105, 2007). El cambio que ocurre en el color, se determina como grados de solidez (ISO 105, 2007). Los documentos IS0 105, (2007) proporcionan la información de carácter general sobre los métodos para probar la solidez del color de las materias textiles. Existen una gran cantidad de pruebas de

solidez que se pueden aplicar a los textiles, tanto para determinar la solidez del color en los materiales o la firmeza del color en el tinte. Entre estas se encuentran las pruebas de solidez a (ISO 105, 2007): 1) Luz y erosión, 2) Lavado y planchado, 3) Limpieza en seco, 4) Agentes acuosos, 5) Contaminantes atmosféricos, 6) Agentes de blanqueo, 7) Tratamientos térmicos, 8) Vulcanización, 9) Carbonización, 10) Mercerizado, 11) Solventes orgánicos, 12) Sosa en ebullición, 13) Descruzado, 14) Formaldehído, 15) Calentamiento con presión, 16) Frote, 17) Metales, etc., estas pruebas se aplican de acuerdo a las necesidades de cada usuario siguiendo la normatividad.
El grado de solidez puede darse en escala de grises, la cual es la una medición visual entre la referencia (muestra teñida inicial) y la tela una vez que se aplican las pruebas de solidez, con lo que se asigna un grado numérico (ISO 105, 2007). Asimismo el grado de solidez puede darse mediante las diferencias entre las coordenadas del espacio CIELab (ΔL^*, Δa^*, Δb^*) o ΔE^*_{ab}, lo que representa la distancia entre la referencia y las mediciones de las pruebas de solidez en el espacio CIELab.

Una prueba que no esta normada, pero con la que se pueden obtener resultados interesantes, es la caracterización de la tela teñida. Esta caracterización consiste en determinar la diferencia microscópica entre la tela final teñida en comparación con la tela original, mediante un microscopio electrónico de barrido (Allam *et al*., 2009). Esto con la finalidad de obtener otros datos que nos permitan relacionar ambos tipos de tela (Allam *et al*., 2009). El detector del microscopio electrónico de barrido mide la cantidad de electrones enviados que arroja la intensidad de la zona de muestra, siendo capaz de mostrar figuras en tres dimensiones. Utiliza un haz de electrones en lugar de un haz de luz para formar una imagen. Tiene una gran profundidad de campo, la cual permite que se enfoque a la vez una gran parte de la muestra. También produce imágenes de alta resolución, lo que significa que características espacialmente cercanas en la muestra pueden ser examinadas a una alta magnificación. En el microscopio electrónico de barrido la muestra es recubierta con una capa de carbón o una capa delgada de un metal, como el oro para darle propiedades conductoras a la muestra para llevarlas al microscopio y observarlas en la pantalla. Posteriormente es barrida con los electrones acelerados que viajan a través del cañón (Pelczar *et al*., 1982). Finalmente las imágenes proyectadas son almacenadas en CD's para su posterior análisis.

Con este trabajo se logro una técnica a partir del método de pre-mordentado, que permitió fijar el color en la tela de algodón, así como determinar el efecto que tienen los mordientes sobre el color de la tela final teñida. También se llego a una serie de resultados que permitieron determinar la estabilidad del color en la tela y su caracterización.

III.2 Tratamiento biológico de efluentes textiles

III.2.1 Efluentes textiles

El agua residual textil es notoriamente conocida por tener un fuerte color, grandes cantidades de sólidos suspendidos, pH con fluctuaciones, alta temperatura y alta concentración de demanda química de oxígeno (DQO) (Kim *et al*., 2002). Mundialmente en la industria textil existen alrededor de 10,000 tipos de colorantes sintéticos, de cada uno de ellos se produce más de $7x10^5$ toneladas al año, de los cuales del 10 al 15% se encuentran en los efluentes industriales (Liu *et al*., 2004). El color en los efluentes industriales pocas veces es considerado como una forma de contaminación a pesar de los daños que provoca, puede estar asociado a la presencia de compuestos tóxicos y grupos cromóforos o polímeros de alto peso molecular (Rodríguez *et al.,* 2003). Algunos de estos colorantes son estables en ese medio a la luz, la temperatura y al ataque microbiano haciéndolos compuestos recalcitrantes y tóxicos (Liu *et al*., 2004). El color en las aguas residuales de la industria textil es altamente visible y altera la estética natural del agua. Además de que se ve afectada la transparencia y la solubilidad del agua, el color en el agua impide el paso de la luz y el oxígeno, por lo tanto, desfavorece el desarrollo de microorganismos y su auto depuración o tratamiento biológico (Kim *et al*., 2002).

En base a la estructura química de los grupos cromóforos, los colorantes sintéticos pueden clasificarse en colorantes azo, antraquinona, trifenilmetano y heterocíclicos (Liu *et al*., 2004; Arora y Chander, 2004). La mayoría de estos colorantes son mutagénicos y cancerígenos; y no son removidos completamente con métodos tradicionales de tratamiento de aguas residuales (Liu *et al*., 2004; Health, 2006).

Los colorantes azo son compuestos orgánicos que contienen nitrógeno unido a anillos aromáticos, conocido como grupo azo (AITEX, 2006). Son los colorantes más populares, usados en la industria textil, se produce más de un millón de toneladas anuales en el mundo y representan el 70% de los colorantes sintéticos, el 30% de estos colorantes aplicados en el proceso fluyen a los efluentes (Somasiri *et al*., 2006). Estos colorantes constituyen el grupo más extenso de todos los colorantes orgánicos disponibles en el mercado. El grupo azo característicos de los colorantes azoicos, es susceptible de reducirse, dando lugar a formación de aminas aromáticas. Algunas de estas arilaminas aromáticas, tienen un potencial cancerigeno demostrable (AITEX, 2006). Cuando estos colorantes azo penetran en el cuerpo del ser humano, son capaces de disociarse por la acción de alguna de nuestras enzimas y volver a producir las correspondientes aminas aromáticas. Se puede afirmar que aquellos colorantes azo utilizados en el teñido de prendas textiles, que contienen en su estructura una amina carcinogénica susceptible de ser liberada, poseen por si mismos potencial cancerígeno (AITEX, 2006).

La antraquinona es una sustancia que se utiliza para la fabricación de colorantes y papel, como medicamento y como repelente de pájaros para proteger la semilla (Health,

2006). Su característica cromófora es el grupo cabonil, afecta la respiración y es posible que pueda absorberse a través de la piel, puede irritarla y causar alergias. En la industria textil existe una gran cantidad de clases de este tipo de colorante, de los cuales del 10 al 20% se derraman durante el proceso, circulando hacia los efluentes (Somasiri *et a*l., 2006). Tanto los colorantes azo, como la antraquinona, trifenilmetano y los compuestos heterocíclicos son tóxicos para el ser humano (Health, 2006).

La industria textil, en general, es una de las industrias que tienen altos consumos de agua, ya que una gran parte del proceso productivo es en húmedo. La generación del efluente se realiza en forma intermitente. Como consecuencia de las operaciones húmedas en una planta textil, el agua residual contiene alunas sustancias como: almidones, dextrinas, gomas, glucosa, ceras, pectinas, alcoholes, ácidos grasos, acido acético, detergentes, hidróxido de sodio, carbonatos, sulfuro, cloruro, colorantes y pigmentos, peróxido entre otros, en estos efluentes predomina el color del colorante usado (Salas, 2005).

III.2.2 Tratamiento de efluentes textiles

El color en los efluentes textiles por lo tanto puede estar asociado a la presencia de grupos cromóforos. La norma oficial Mexicana NOM-CCA-014-ECOL/1993, NOM-001-SEMANART-1996, establecen los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores, provenientes de la industria textil. Aun cuando el color en el agua residual no esta en los parámetros prioritarios dictados por esta norma, debe ser considerada la eliminación del color si interesa reutilizarla.
El problema de la contaminación ambiental derivado de los efluentes de la industria textil puede resolverse con algunas soluciones, que pueden ser disminuir la descarga en el proceso o sustituir algunos productos tóxicos por productos naturales. Otra solución es el tratamiento de los efluentes por medios físicos, químicos y biológicos. Otro recurso es el de recircular los efluentes dentro del proceso de manera parcial o total. Si se conjugan dos de las soluciones, el resultado será más satisfactorio, como es el caso de sustituir los colorantes sintéticos por colorantes naturales y a su vez realizar el tratamiento ya sea físico, químico ó biológico de los efluentes obtenidos en el mismo.

Generalmente, los efluentes correctamente tratados pueden descargarse sin inconvenientes a ríos y otras fuentes de aguas superficiales. Sin embargo, cuando los efluentes se descargan sin el debido tratamiento, se pueden observar diferencias en la coloración original del cuerpo de agua y la formación de espumas en su superficie. La descarga de compuestos fácilmente biodegradables en grandes cantidades ocasiona la disminución del oxígeno disuelto en el agua y extingue la vida acuática directamente o hace a los peces más susceptibles a los efectos tóxicos de otras sustancias. Por tanto, es importante plantear el tratamiento de este tipo de efluentes con la finalidad de su rehúso y disminución de vertidos de residuales contaminantes (Ashoka *et al*., 2002). Las plantas para tratamiento de aguas residuales convencionales, tienen una baja eficiencia de eliminación contaminantes industriales ya que estos son resistentes a la degradación (Paga *et al*., 1994; Ganesh *et al*., 1994; Shaul *et al*., 1985). En el caso de la industria textil se precisa de tratamientos primarios, secundarios y avanzados. Los

efluentes de teñido son generalmente tratados por procesos físicos o químicos (adsorción, filtración por membrana, floculación fisicoquímica combinada con flotación, intercambio catiónico, precipitación y ozonación), estos métodos son cada vez menos eficientes para lograr la calidad de agua con fines de rehúso (Arslan y Balcioglu, 2000). Además estas tecnologías son costosas, poco adaptables a un amplio rango de residuales de colorantes y usualmente ineficientes en la remoción del color, generando corrientes de aguas coloreadas (Zilly *et a*l., 2002; Fu y Viraraghavan, 2001; Vandevivere *et a*l., 1998; Banat *et al*., 1996). En la Tabla 2, se muestran algunos métodos para el tratamiento de efluentes para la eliminación de color, donde algunas de las nuevas tecnologías que se presentan son (Escamilla, 2007): Adsorbentes biológicos, tratamiento biológicos anaerobios, oxidación con H_2O_2, técnicas electroquímicas, degradación foto catalítica y mineralización ultrasónica. Los procesos de oxidación avanzada son aquellos procesos que implican la formación de radicales (•OH) de elevado potencial de oxidación (2.8 voltios) (Arslan y Balcioglu, 2000). Constituyen posiblemente, en un futuro próximo uno de los recursos tecnológicos más utilizados en el tratamiento de aguas contaminadas con productos orgánicos de vertidos industriales (industrias químicas, agroquímicos, textiles, de pintura, etc.), urbanos o simplemente aguas superficiales o subterráneas contaminadas (Arslan y Balcioglu, 2000). Los oxidantes más utilizados son: oxígeno, peróxido de hidrógeno, hipoclorito de sodio, permanganato de potasio, cloro y ácido hipocloroso, peróxido de hidrógeno con catalizadores (Cu^{2+}, Fe^{2+}), dióxido de cloro, ozono (Cosmen, 1996).

En el proceso de teñido de algodón con el extracto de grana carmín, por un lado se esta sustituyendo los colorantes sintéticos dentro de un proceso textil, pero por otro lado el efluente emanado de este proceso de teñido origina efluentes coloreados, cuyo poder colorante es el ácido carmínico. Por lo que es preciso el sucesivo tratamiento de este efluente para eliminar el color.

Tabla 2. Métodos para eliminación de color en los efluentes textiles (Escamilla, 2007).

Método	Eliminación de color	Costo	Otras características
Carbón activado	Muy buena	Alto	Regeneración
Tecnología de membranas	Buena	Alto	Problemas de limpieza y mantenimiento
Ozonización	Buena	Alto	Subproductos-reducción de DQO
Coagulación/Floculación	Buena	Alto	Producción de lodos, reducción de DQO
Nuevas Tecnologías*	Generalmente buena	Medio/Alto	Afinidad buena a los colorantes

* Adsorbentes biológicos, tratamiento biológicos anaerobios, oxidación con H_2O_2, técnicas electroquímicas, degradación foto catalítica y mineralización ultrasónica.

III.2.3 Tratamiento biológico

Los procesos convencionales para el tratamiento de aguas residuales municipales e industriales tales como: adsorción, floculación, procesos de lodos activados, no son eficientes para la decoloración de los efluentes textiles, ya que no pueden remover eficientemente los compuestos orgánicos refractarios. En el tratamiento biológico el uso de hongos ligninolíticos es una de las posibles alternativas para estudiar la biodegradación de colorantes. Otra de las alternativas, es el uso de los microorganismos que se encuentran en el mismo efluente. Esto se puede llevar a cabo mediante un tratamiento secundario donde se utiliza un proceso de oxidación biológica llevado acabo por los microorganismos presentes en el agua residual. Una vez realizado un proceso de separación y de sedimentación (tratamiento primario), los sólidos remanentes se descomponen generando la degradación. Los procesos pueden realizarse a través de un filtro de lecho, un tanque agitado o una laguna de aguas residuales. Los tratamientos se llevan a cabo de manera aeróbica y anaeróbica (Maier *et al*., 2000).

Es importante establecer el estado que se debe a la diversidad, concentración y composición de los colorantes y otros compuestos químicos en los efluentes textiles. Así como también encontrar especies de hongos y/o microorganismos que sean capaces de decolorarlos y degradarlos eficientemente.

Actualmente existen algunas alternativas biotecnológicas basadas en el uso de hongos y bacterias para llevar a cabo el tratamiento de estos efluentes con el objeto de disminuir sus impactos ambientales (Liu *et al*., 2004; Coulibaly *et al.*, 2003; Selvam *et al.,* 2002; Zilly *et al.*, 2002; Fu y Viraraghavan, 2001; Sam y Yesilada, 2001). En años recientes, se ha desarrollado una intensa investigación en la decoloración de efluentes. Se conoce que el empleo de hongos y de bacterias a través de sus enzimas pueden ayudar a reducir la cantidad del colorante (Arora y Chander, 2005; Chander *et al*., 2004; Gill *et al*., 2002). Se ha trabajado con varias especies de hongos en un medio sólido para probar la decoloración de algunos colorantes usados en la industria del teñido (Chander *et al*., 2004; Gill *et al*., 2002).

El tratamiento biológico permitirá tener un mejor uso y descarga del efluente, dado que los hongos ligninolíticos tienen una gran capacidad de romper los compuestos fenólicos de la lignina y sus derivados, por lo que pueden ser empleados para bio-decolorar o disminuir la intensidad del color de los efluentes que contienen colorantes convencionales de la industria textil (Arora y Chander, 2005).

III.2.4 Hongos ligninolíticos

Los hongos ligninolíticos también llamados hongos de la pudrición blanca pertenecen a la especie de los basidiomicetes (Quintero *et al*., 2006). Se les llama hongos ligninolíticos por ser responsables de la degradación de la lignina (Quintero *et al*., 2006).

Los basidiomicetes que causan la pudrición blanca de la madera corresponden aproximadamente al 96% de las *Poliporáceas* (Alexopoulos *et al*., 1996).

III.2.4.1 Especie T. versicolor

El hongo *T. versicolor*, pertenece a la orden de *Aphyllophorales* y a la familia *Polyporaceae* (Alexopoulos *et al*., 1996). La especie más común de *Polyporaceae* es probablemente el *T. versicolor* (Alexopoulos *et al*., 1996). La mayoría de los especimenes silvestres de este hongo tienen una superficie aterciopelada, con colores distintivos concéntricos tales como marrón, gris o rojizo (Figura 5) (Alexopoulos *et al*., 1996). Este hongo *T. versicolor* es conocido comúnmente como cola de pavo, debido a sus matices lo que hace que se utilice muchas veces en arreglos florales (Rico, 2006; Alexopoulos *et al*., 1996). Los otros nombres científicos con los que se puede encontrar en diferentes literaturas son: *Coriolus versicolor y Polyporus versicolor.* Del nombre científico del hongo *T. versicolor,* la palabra *Trametes* significa “carne" o "tela", por tener una consistencia fibrosa, asimismo la palabra *versicolor* significa multicolor (Rico, 2006; Needham, 2005). Este hongo crece hasta 10 cm de diámetro y presenta en la superficie superior zonas multicolores (Rico, 2006; Needham, 2005). Generalmente el hongo tiene menos de 2 mm de grosor con características resistentes y fibrosas (Needham, 2005). La superficie inferior tiene un blanco pálido con una capa amarilla. A nivel laboratorio el hongo se desarrolla a temperaturas que oscilan entre los 30 y 35 ^{o}C y a un pH de 4.5 a 5.0. No esporula asexualmente (Cruz, 1996). El hongo tiene una gran eficiencia para descomponer la madera, reciclando los alimentos y los minerales dentro del ecosistema. Este hongo crece a través de la madera y secreta lacasas, que son las enzimas que despolimerizan la lignina (Needham, 2005).

Figura 5. Fotografía que muestra al hongo *T. versicolor*, en su estado silvestre.

III.2.5 Hongos ligninolíticos en el tratamiento de efluentes

El uso de hongos ligninolíticos es una de las posibles alternativas para estudiar la biodegradación de colorantes. Estos hongos pueden mineralizar compuestos xenobióticos a CO_2 y agua a través de su sistema ligninolítico altamente oxidativo y no específico, los cuales son responsables de la decoloración y degradación de un amplio intervalo de colorantes (Pinheiro *et al*., 2004; Wesemberg *et. al.*, 2003; Fu y Viraraghavan, 2001; McMullan *et al.*, 2001; Vandevivere *et al*., 1998; Knapp *et al.*, 1995).

Los hongos ligninolíticos se caracterizan por la capacidad de decoloración de efluentes, algunos estudios se han enfocado a la decoloración (acción y efecto de decolorar) de efluentes que contienen colorantes sintéticos del grupo azo (Zhao *et al*., 2008; Mohorcic *et al*., 2006; Eichlerová *et al*., 2005; Yesilada *et al.*, 2002; Selvam *et al.,* 2002). Ejemplos de esto, es el trabajo realizado por Yesilada *et al*, (2002), para los colorantes del grupo azo; azul, negro y rojo por medio de los hongos *Coriolus Versicolor*, *Funalia. Trogií* y *Phanerochaete chrysosporium*, con los que obtuvieron resultados de hasta 99 % para el color rojo con el *P. chrysosporium*. También se ha reportado la decoloración de colorantes azo en los efluentes textiles por medio del hongo *Thelephora sp* (Selvam *et al.,* 2002). Se encontró una decoloración del 33.3 %, 97.1 % y 98.8 % de los colorantes naranja G, rojo congo, y negro amido 10B respectivamente; además de una decoloración del 61 % en un efluente industrial coloreado con una mezcla de colorantes sintéticos (Selvam *et al.,* 2002). Sin embargo, la reducción de color para el azul brillante R. alcanzó hasta un 98 %, utilizando *Ischnoderma resinosum* en un tiempo de 14 días (Eichlerová *et al*., 2005).

Además algunos hongos ligninolíticos se identifican por su habilidad de degradar la estructura de los colorantes en diferentes compuestos químicos (Cajthml *et al.,* 2006; Arora y Chander, 2005; Saparrat y Guillén, 2005; Chander *et al*., 2004; Wesemberg *et al*., 2003; Gill *et al*., 2002; McMullan *et al*., 2001; Fu y Viraraghavan, 2001; Vandevire *et al*., 1998). Entre ellos se encuentran los que contienen grupos azo, trifenilmetano polímeros, y colorantes heterocíclicos (Zhao *et al*., 2008; Mohorcic *et al*., 2006; Eichlerová *et al*., 2005; Selvam *et al.,* 2002; Yesilada *et al*, 2002; Heinfling *et al*., 1997; Ollikka *et al*., 1993; Paszczynski y Crawford*.,* 1991). Y algunos otros compuestos como el nenz[a]anthracene hidrocarburo policíclico aromático (Cajthml *et al.,* 2006), el cual se encontró que podía ser degradado por el hongo *Irpex lacteus* en más de 70 % de su estructura original y transformado en otros once compuestos diferentes, en un tiempo de 14 días (Cajthml *et al.,* 2006).

III.2.5.1 Especie Trametes en el tratamiento de efluentes

Debido a su poder de degradación de compuesto químicos han sido investigadas una gran variedad de especies de hongos *Trametes* (Casierei., *et al* 2008; Xavier *et al*., 2008; Auriol *et al*., 2007; Ramsay *et al*., 2005; Liu *et al*., 2004; Coulibabaly, 2003; Wesenberg *et al*., 2003; Borchert y Libra, 2001; Wong y Yu, 1999; Young y Yu, 1997; Heinfling *et al*., 1997). Asimismo esta especie de hongos ha sido estudiada para disminuir el color en colorantes sintéticos (Casierei., *et al* 2008; Borchert y Libra, 2001; Wong y Yu, 1999; Young y Yu, 1997; Heinfling *et al*. 1997).

De esta especie el hongo *T. versicolor*, ha resultado una muy buena alternativa para el tratamiento biológico de efluentes (Xavier *et al*., 2008). Se han realizado estudios con este hongo *T. versicolor* para la decoloración de colorantes sintéticos (Ramsay et al., 2005; Liu *et al*., 2004; Borchert y Libra, 2001; Leidig *et al*. 1999; Wong y Yu, 1999; Young y Yu, 1997; Heinfling *et al*. 1997; Barr y Aust, 1994). Se ha trabajado con el colorante tipo poly-antraquinona (Poly R-478) con reducciones de color de 80 a 89 % empleando este hongo (Leidig *et al*. 1999). En colorantes tipo azo, se han obtenido decoloraciones del 91al 99 % en reactores tipo bach con el mismo microorganismo (Borchert y Libra, 2001). Otro ejemplo es la reducción del color en un 75 % en efluentes que contienen amanranth (colorante sintético) (Ramsay *et al*., 2005). Liu *et al,* (2004), trabajaron con el hongo *T. versicolor*, en la decoloración del rojo ácido B_{2GL}, mostrando porcentaje de decoloración de hasta un 98 % en un tiempo de 8 días.

Un ejemplo con lo que respecta a la degradación con el hongo *T. versicolor*, es el trabajo realizado por Auriol *et al*., (2007), donde demostraron que estrógenos esteroides podían ser removidos por un sistema catalizado por la Lcc (laccasa) producida por el hongo *T. versicolor*. Por otro lado la capacidad de degradación de los hongos ligninolíticos tiene que ver con su actividad enzimática así lo demuestra Liu *et al*., (2004), al comprobar que el hongo *T. versicolor*, presentó una mayor actividad enzimática en peroxidasa dependiente de manganeso (MnP) y versatil peroxidasa (VP), y por lo tanto una mayor decoloración de los colorantes sintéticos (nueve diferentes colorantes, usados para la prueba), esto comparado con el hongo *F. lignosus*. Demostraron finalmente que el hongo *T. versicolor*, fue el más eficiente para la decoloración, en comparación de todos los cultivos que probaron. Además demostraron que la estructura de antraquinona contenida en algunos de los colorantes sintéticos, fue la más fácil de degradar y por lo tanto el colorante con esta estructura fue el más fácil de decolorar por el mismo hongo (Liu *et al*., 2004).

Por otro lado Wesenberg *et al*., (2003), realizaron un estudio bibliográfico acerca del tratamiento de efluentes industriales que contienen colorantes sintéticos con hongos ligninolíticos entre ellos el hongo *T. versicolor*, en el que menciona que para llevar a cabo un proceso robusto de tratamiento es preciso conocer la fisiología de los hongos, así como la biocatálisis y las características de estabilidad de sus enzimas tales como peroxidasa dependiente de manganeso (MnP), lignina peroxidasa (LiP) y Lacasa (Lcc).

Se han realizado algunas pruebas con el hongo *T. versicolor*, para la decoloración de efluentes que contienen colorantes sintéticos (diazo, monoazo y antraquinona), en reactores tipo bach (Brochert y Libra, 2001). Por los resultados encontrados en los trabajos mencionados y debido a las propiedades de este hongo *T. versicolor*, para disminuir el color y sobre la degradación de compuestos se consideró como la mejor opción para tratar el efluente obtenido del teñido del algodón con el extracto de grana carmín (ácido carmínico). Sin embargo, existe poca información acerca de la decoloración o degradación de colorantes naturales. Es por ello que en el presente trabajo se llevó a cabo la decoloración biológica de las aguas residuales del proceso de teñido de algodón con el extracto de grana carmín, empleando el hongo ligninolítico *T.*

versicolor CDBB-H-1051, en medio líquido. Primeramente se determino si el efluente podía ser decolorado por el hongo *T. versicolor*, realizando una prueba preliminar en medio solidó. Posteriormente se aplicó un diseño experimental para determinar el tratamiento en medio líquido, para las pruebas de decoloración, resultando ocho tratamientos. De estos ocho se escogieron los tres tratamientos que tuvieron los mejores resultados de decoloración. Los cuales se realizaron nuevamente y se efectuó un análisis de HPLC, para establecer el nivel de degradación del ácido carmínico, además se propuso una secuencia de degradación por el hongo *T. versicolor*.

IV. Hipótesis

- El proceso de teñido propuesto permite una mejor homogeneidad del colorante en el algodón y provee una mejor estabilidad del colorante sobre la tela.

- Los contaminantes presentes en el efluente del teñido con grana carmín son factibles de degradar por medios biológicos (hongos ligninolíticos).

V. Objetivos

V.1 Objetivo General

- Establecer las mejores condiciones para el teñido de algodón con grana carmín *(Dactylopius coccus* Costa) por medio de la modificación del proceso de teñido artesanal.

- Realizar pruebas de decoloración y degradación biológicas de las aguas residuales del proceso de teñido de algodón con la grana carmín, empleando el hongo ligninolítico *Trametes versicolor* CDBB-H-1051.

V.2 Objetivos Particulares

- Establecer las mejores condiciones de teñido de algodón con grana carmín, mediante la variación de los reactivos del proceso de mordentado.

- Efectuar pruebas de estabilidad de color a las muestras obtenidas del teñido de algodón con grana carmín en presencia de ácidos y álcalis; temperaturas altas; lavado con detergentes biodegradables; frote en seco; y luz artificial.

- Determinar la efectividad de decoloración del hongo ligninolítico *Trametes versicolor* CDBB-H-1051 sobre un efluente generado en el proceso de teñido de algodón con grana carmín, tanto en un medio sólido como en un medio líquido a nivel laboratorio.

- Realizar pruebas de degradación mediante un HPLC y proponer la secuencia de degradación sobre el ácido carmínico, presente en el extracto de grana carmín del efluente de teñido.

VI. Materiales y métodos

VI.1 Teñido de la tela de algodón con grana carmín y solidez del color

VI.1.1 Materiales y reactivos

La tela de algodón mercerizada se compró en una empresa local textil con una composición de 100% algodón. Esta tela fue preparada mediante un proceso de blanqueo y mercerizado. El blanqueo se llevó a cabo como un proceso continuo antes de mercerización. Esta consistió en tres etapas: chamuscado, desencolado, descrudado y blanqueo. El mercerizado es un proceso continuo, donde se ajusta el pH a 7.0 con soluciones diluidas de sosa cáustica y ácido acético. La tela de algodón utilizada en el teñido presentó las siguientes características: Titulo de los hilos; Urdimbre Ne. 16 / 1, Trama Ne.12 / 1; Cuenta de la Urdimbre de 120 hilos/in; Cuenta de la Trama 40 hilos/in, Peso 243,2 g/m^2, Tejido sarga 3x1. La grana carmín seca con un contenido de 20% de ácido carmínico, se obtuvo del centro Tlapanochestli® Oaxaca, México. Se emplearon las siguientes sustancias grado reactivo como mordientes: $AlK(SO_4)_2.12H_2O$ (alumbre), Na_2CO_3 (carbonato de sodio) y $C_{76}H_{52}O_{46}$ (ácido tánico).

VI.1.1.1 Determinación del porcentaje de ácido carmínico en la grana carmín

Se determinó el valor en el porcentaje de ácido carmínico en la grana carmín, con la finalidad de tener las mínimas variaciones en el proceso de teñido, mediante el siguiente método (Lesso, 2009, Lesso y Arroyo, 2006, Marmion, 1984): 1) Con un juego de tamices se limpió y homogenizó el tamaño de la grana carmín seca, posteriormente con la ayuda de un mortero se molió la grana carmín hasta obtener en un polvo fino. 2) Se pesaron 0.025 g del polvo y se pusieron en un tubo de ensaye, con 7.5 ml HCl 2N. Este tubo con la solución se colocó en baño maría a una temperatura de 94 ºC durante 30 min, después se dejo enfriar. 3) La solución de la etapa anterior se aforó a 250 ml y se filtró desechando los primeros 50 ml del filtrado. 4) Posteriormente se tomaron los valores de la absorbancia de esta solución a una longitud de onda de 494 nm en un espectrofotómetro, modelo Espectronic 22, marca LaboMed, Inc. U.S.A. Se obtuvieron las lecturas de la absorbancia de tres replicas por muestra. El promedio de estos valores de absorbancia se sustituyó en la Ecuación 1, para encontrar el porcentaje de ácido carmínico.

$$\%AC = \frac{ABS}{1.39} x100; \qquad [1]$$

Donde ABS, es el valor de la absorbancia de la solución final filtrada. 1.39, es el valor correspondiente de la absorbancia del ácido carmínico al 100%.

VI.1.2 Lavado, mordentado y teñido de la tela de algodón

El proceso de teñido consistió de tres etapas, denominadas: 1) Lavado, 2) Mordentado y 3) Teñido (Figura 6). El método que se utilizó fue el de pre-mordentado, esto debido a experiencias previas con el teñido (Lesso y Arroyo, 2006).

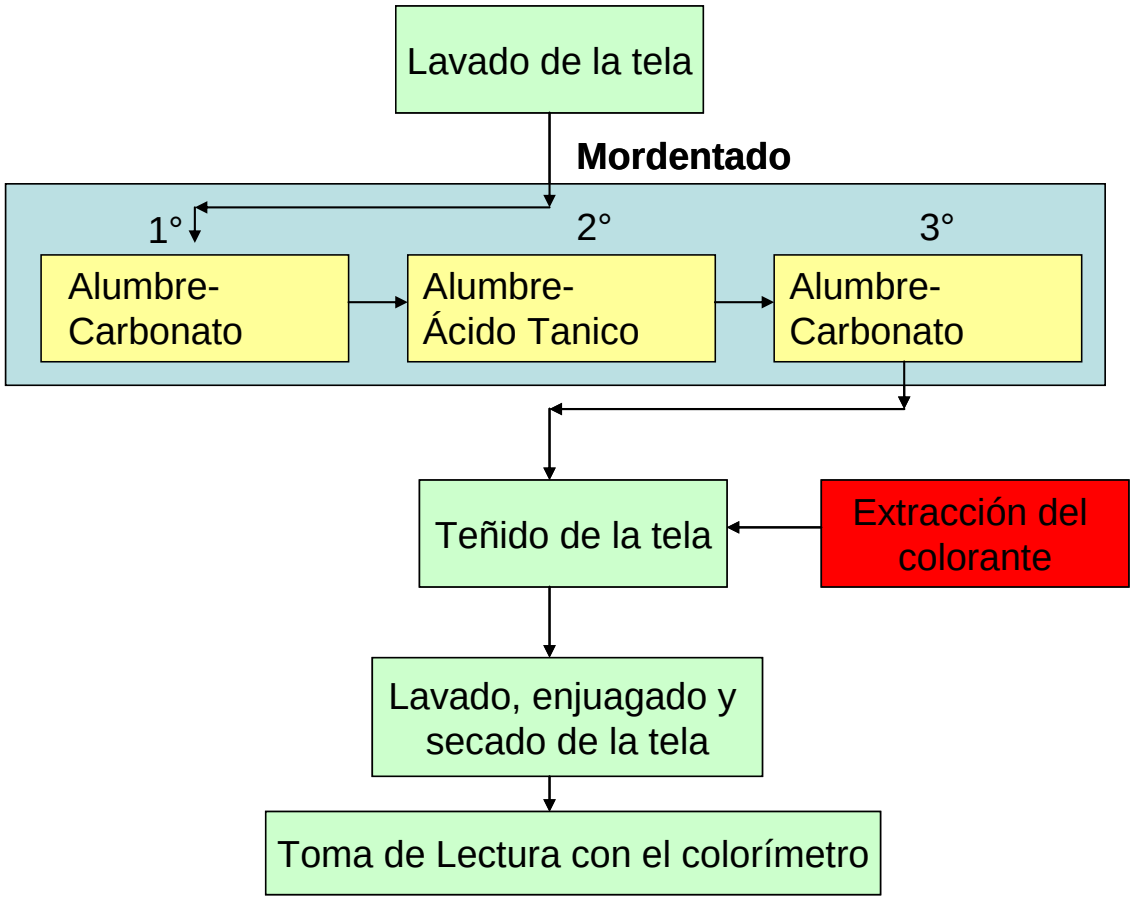

Figura 6. Diagrama de flujo del proceso de teñido. Donde 1°, 2° y 3° se refiere a cada fase de mordentado, las cuales se realizan a diferentes tiempos de manera sucesiva.

El análisis de la influencia del pre-mordentado sobre el comportamiento del color en tela de algodón, se llevó a cabo a través de cuatro experimentos por triplicado en función a las concentraciones de $AlK(SO_4)_2.12H_2O$, Na_2CO_3 y $C_{76}H_{52}O_{46}$ (Tabla 3). El porcentaje de los mordientes o variables agregados a la tela de algodón, fueron directamente proporcionales al peso seco de ésta. Se compararon los cuatro experimentos, en base al resultado del color obtenido con la variación de los porcentajes de los mordientes. Los resultados se compararon mediante un análisis

estadístico ANOVA de comparación múltiple, con un nivel de significancia de 95 %, con el paquete estadístico SPSS versión 15.

Tabla 3. Condiciones de los experimentos, se muestra la cantidad de mordiente empleado en cada mordentado, para encontrar el mejor color en el teñido de algodón con grana carmín.

Reactivos mordentes (%)*	**Experimentos**			
	1	**2**	**3**	**4**
Primer mordentado				
$AlK(SO_4)_2.12H_2O$	25	25	25	20
Na_2CO_3	20	20	10	20
Segundo mordentado				
$AlK(SO_4)_2.12H_2O$	25	25	25	20
$C_{76}H_{52}O_{46}$	20	12	20	20
Tercer mordentado				
$AlK(SO_4)_2.12H_2O$	25	25	25	20
Na_2CO_3	20	20	10	20

*Cada valor corresponde al porcentaje de cada reactivo agregado, en función al peso seco de la tela de algodón.

VI.1.2.1 Lavado de la tela de algodón

Se enjuagó la tela con 100 ml de agua caliente a 60°C por cada gramo de tela, se agregaron 18 ml de jabón neutro por cada litro de agua y 25 % de Na_2CO_3, en función al peso seco de la tela de algodón. La mezcla se calentó a 54 °C. Se adicionó la tela, previamente pesada a la mezcla. La tela se movió constantemente de arriba hacia abajo y se dejó remojar con los reactivos durante 24 h. Posteriormente se lavó la tela en la misma mezcla y se enjuagó bien en un recipiente con agua a temperatura ambiente (aproximadamente a 27 °C).

VI.1.2.2 Mordentado de la tela

El mordentado de la tela se llevó a cabo en tres fases: En la primera se agregó $AlK(SO_4)_2.12H_2O$ y Na_2CO_3. En la segunda fase, se añadió $AlK(SO_4)_2.12H_2O$ y $C_{76}H_{52}O_{46}$. En la tercera fase se adicionó $AlK(SO_4)_2.12H_2O$ y Na_2CO_3. Las cantidades que fueron añadidas en cada experimento se muestran en la Tabla 3. El porcentaje de cada uno fue de acuerdo al peso de la tela seca; con 100 ml de agua por cada gramo de tela. En cada una de las fases la mezcla se calentó hasta que alcanzó una temperatura de 40 °C y se agregó la tela de algodón. Luego, la mezcla se llevó a ebullición durante 1 h, durante ese periodo de tiempo, la tela se movió constantemente de arriba hacia abajo. En la primera y segunda fases, se enfriaron las mezclas y se dejaron reposar durante 24 h. En la tercera fase la tela se sacó y se pasó a la etapa de teñido.

VI.1.2.3 Extracción del colorante

Se pesó 25 % de grana carmín sobre el peso de la tela seca y se molió hasta obtener un polvo fino, el cual se maceró dejándolo reposar en 25 ml de agua por cada gramo de tela a 27 °C por 24 h. Se filtró la mezcla con ayuda de una bolsa de algodón. La bolsa que contenía la grana carmín molida, se introdujo nuevamente en el recipiente donde se encontraba la solución del filtrado, se llevó a ebullición durante 15 min. La bolsa se agregó nuevamente con el filtrado a un nuevo recipiente con 15 ml de agua por cada gramo de tela, se llevó a ebullición durante 15 min. Se repitió este proceso dos o más veces, hasta agotar el colorante. Los extractos obtenidos se mezclaron y se almacenaron para la etapa de teñido.

VI.1.2.4 Teñido de la tela de algodón

El extracto de la grana carmín se ajustó a un volumen de 100 ml con agua destilada por cada gramo de tela y se calentó. Cuando la temperatura alcanzó los 40 °C, se agregó la tela de algodón mordentada del proceso anterior. Se llevó a ebullición, moviendo constantemente la tela de arriba hacia abajo. Finalmente, se dejó enfriar la mezcla hasta 40 °C. Una vez que el color se adhirió a la tela de algodón, se lavó ésta con agua destilada hasta que no hubo desprendimiento de color. Posteriormente, se planchó y se colocó a la intemperie hasta que se secó por completo.

VI.1.3 Medición del color

La variable de respuesta fue el color, el cual se analizó mediante un colorímetro CR-400 marca Minolta. Este colorímetro se basa en la escala de colores: el área cromática CIELab. Es un sistema coordenado cartesiano definido por tres coordenadas colorimétricas L*, a* y b*, de magnitudes adimensionales (Michael *et al*., 2003; Shanker y Vankar, 2007). Los resultados del color en los cuatro experimentos (L*, a* y b*), se compararon mediante un análisis estadístico ANOVA de comparación múltiple, con un nivel de significancia de 95%, con el paquete estadístico SPSS versión 15

VI.1.4 Cálculo de la fuerza del color

Se determinó la fuerza de color en la tela de algodón teñida para los cuatro experimentos (Tabla 1). Mediante un espectrómetro UV-Vis (400-700 nm), marca Perkin Elmer. La fuerza del color fue calculada mediante la ecuación de Kubelka-Munk (Ecuación 2) (Shanker y Vankar, 2007; Vankar *et al*., 2006):

$$K/S = (1-R)^2 / 2R; \qquad [2]$$

Donde *K/S* es la fuerza de color que relaciona el coeficiente de absorción (*K*), con el coeficiente de dispersión (*S*). *R* es la fracción decimal de la reflectancia de la tela teñida con el extracto de grana carmín, para los cuatro experimentos mostrados en la Tabla 3.

VI.1.5 Absorbancia del extracto de la grana y de la tela de algodón teñida

La absorbancia (*A*) de la tela teñida fue medida con un espectrofotómetro UV-Vis Perkin Elmer para sólidos, en el espectro visible (400-700 nm). Y la absorbancia para el extracto de la grana cochinilla (dilución 1/10) fue medida con un espectrofotómetro UV-Vis Jenway para líquidos, en el espectro visible (400-700 nm).

VI.1.6 Análisis de la tela mediante un microscopio electrónico

Se llevó a cabo la caracterización de la tela de algodón obtenida del proceso de teñido con grana carmín. Las muestras fueron analizadas con el microscopio electrónico de barrido (Scanning Electrón Microscopy). El detector del microscopio electrónico de barrido mide la cantidad de electrones enviados que arroja la intensidad de la zona de muestra, siendo capaz de mostrar figuras en tres dimensiones. Previamente las muestras fueron recubiertas con una ligera capa de oro, para posteriormente llevarlas al microscopio y observarlas en la pantalla. Finalmente las imágenes proyectadas fueron almacenadas en CD's para su posterior análisis. Se obtuvieron dos micrografías por cada muestra, dependiendo la observación de la misma, se usaron ampliaciones de 500X y 1000X ó 1500 X, esto de acuerdo a la experiencia del analizador. Se analizó la tela de algodón original sin ningún procedimiento, la tela sometida a la etapa de lavado, la tela sometida a las diferentes etapas de pre-mordentado (1°, 2° y 3°). Se examinó la tela final teñida para los experimentos del 1 al 4.

VI.1.7 Pruebas de solidez del color en la tela

Se realizaron seis pruebas de solidez de color: ácidos y álcalis; agua caliente; lavado doméstico; luz artificial y frote en seco. Estas pruebas de solidez se realizaron modificando las normas internacionales ISO 105, (2007), las normas Mexicanas del Instituto Nacional de Normalización Textil (CNVI-INNTEX, 2007), y de acuerdo a la prueba AATCC, (2003). Para ello se cortaron trozos de tamaño 3x3cm de la tela teñida para cada uno de los cuatro experimentos y sus replicas, a nivel laboratorio. La solidez del color fue determinada para cada uno de los cuatro experimentos, mediante la obtención de los valores ΔL^*, Δa^*, Δb^*, para cada experimento. Estos se compararon con los valores de la escala de grises de acuerdo con la norma ISO 105, (2007). También se determinó la media de los valores ΔL^*, Δa^* y Δb^*, de cada prueba de solidez, para los cuatro experimentos.

VI.1.7.1 Solidez del color a los ácidos y álcalis

Para determinar la solidez del color a los ácidos y álcalis, se consideró la norma ISO 105, (2007). Los trozos de tela teñida se sometieron en agua, a la cual se ajustó el pH con soluciones diluidas de acido acético e hidróxido de sodio a valores de pH de 5 y 9. Se adicionaron los trozos de la tela teñida con grana carmín, en cada solución de pH 5 y pH 9 y se dejaron 24 h en remojo. Posteriormente se secaron los trozos de tela mediante una plancha de vapor. Finalmente una vez que los trozos de tela se secaron se analizó el color.

VI.1.7.2 Solidez del color a temperaturas altas

Se empleó el método realizado de acuerdo a la norma ISO 105, (2007). Se expuso la tela teñida en agua a una temperatura de 60 °C. Para mantener la temperatura a 60 °C, se introdujeron en un horno con control de temperatura en recipientes de vidrio tapados, los cuales contenían agua con los trozos de tela teñida. Las muestras se mantuvieron a esta temperatura durante 24 h. Posteriormente los pedazos de tela teñida se retiraron y se secaron mediante una plancha de vapor, para luego ser analizado el color.

VI.1.7.3 Solidez del color al lavado doméstico

Se consideró la norma ISO 105, (2007). Se sometió la tela teñida a 15 ml de agua y 3 g de detergente biodegradable por cada gramo de tela. Los ingredientes activos del detergente usado son: agentes de limpieza (surfactante aniónico lineal), suavizadores de agua (fosfatos, carbonatos y silicatos), agente antirredepositante y aditivos (blanqueadores y perfumes). Los trozos de tela teñida se lavaron, colocándolos en recipientes que contenían agua y jabón y se pusieron en agitación de 200 rpm durante un periodo de 30 min, a temperatura ambiente (27 °C). Posteriormente los pedazos de tela teñida se retiraron, se enjuagaron con agua y se secaron mediante una plancha de vapor. Finalmente se analizó el color.

VI.1.7.4 Solidez del color a la luz artificial

Esta prueba se llevó a cabo considerando la norma ISO 105, (2007). El método consistió en colocar los trozos de tela teñida seca de los cuatro experimentos, sobre un pedazo de cartulina negra, los cuales fueron introducidos a una caja forrada de negro con las siguientes dimensiones 40 cm de alto* 50 cm de ancho* 100 cm de largo. Los trozos de tela se sometieron a una lámpara clasificada como luz de día (marca Nec de 22W y 1080 Lm de intensidad de luz artificial), durante 20 h a una luminosidad constante, posteriormente se analizó el color de cada trozo de tela.

VI.1.7.5 Solidez del color al frote en seco

Esta prueba se realizó con un frotímetro (crockmeter) de acuerdo a la norma ISO 105, (2007) y de acuerdo a la prueba AATCC 116, (2003). Las muestras secas de las telas de algodón teñidas se colocaron sobre la base del crockmeter, descansando sobre el papel lija, con su lado más largo en dirección del frotado. Se cubrió el vástago del brazo

del crockmeter con un recuadro de tela blanco especial para el equipo, con el tejido de la tela en la dirección del frote. El vástago del brazo cubierto se bajó sobre la muestra seca de algodón teñido, las telas fueron frotadas con una tela blanca testigo, dando 20 rpm. Se retiró la tela de algodón teñida y se analizó el color.

VI.1.8 Obtención de los valores ΔL*, Δa*, Δb*

Una vez realizada la prueba de solidez se midieron las coordenadas colorimétricas L*, a* y b* de la escala cromática CIELab, mediante un colorímetro CR-400 marca Minolta. Posteriormente se procedió a calcular las diferencias en las coordenadas (ΔL*, Δa*, Δb*), mediante la Ecuación 3:

$$\Delta X = X_2 - X_1; \qquad [3]$$

Donde X_2 = Color en la tela después de las pruebas de solidez y X_1= Color en la tela antes de las pruebas de solidez. X, puede tomar valores de L*, a*, b*.

VI.1.9 Escala de grises

La comparación entre la tela original y la tela tratada con las pruebas de solidez, también se obtuvo con el número de escala de grises, de conformidad con la escala de valores especificados en la norma ISO 105, (2007). (Figura 7).

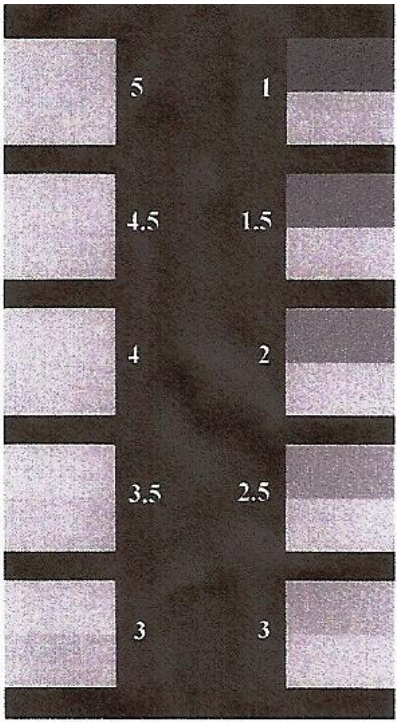

Figura 7. Escala de grises para determinación de variación de color entre pares.

Una calificación de 5 es la mejor y una calificación de 1 es la más baja (Sarkar y Seal, 2003). Puntuaciones de solidez de valores menores de grado 3, indica una considerable alteración en el color después de la prueba (Sarkar y Seal, 2003)

VI.1.10 Pruebas de solidez del color en la tela de algodón teñida con colorantes sintéticos

La Metodología de las pruebas de solidez del color en la tela de algodón teñida con colorantes sintéticos, fue la misma que se aplicó a la tela de algodón teñida con grana carmín, (Arroyo *et al.,* 2008, Hurtado *et al*., 2008). Se realizaron las pruebas de solidez del color a: ácidos y álcalis, temperaturas altas, lavado doméstico, luz artificial, frote en seco. Para la medición del color se utilizó el Colorímetro CR-400 marca Minolta, siguiendo la misma metodología propuesta en Arroyo *et al.,* (2008) y Hurtado *et al*., (2008) (Sección VI.1.3).

Para comparar las pruebas de solidez del color de la tela de algodón teñida con grana carmín contra la tela de algodón teñida con colorantes sintéticos. Se analizaron los valores del porcentaje de color perdido, después de realizadas las pruebas de solidez. Esto con el propósito de observar la estabilidad del colorante natural contra el colorante sintético. El porcentaje de color perdido fue calculado de acuerdo a Arroyo *et al*., (2008) y Hurtado *et al*., (2008). Para el análisis estadístico de la comparación del porcentaje de color perdido de la tela de algodón teñida con grana carmín, contra la tela de algodón teñida con colorantes sintéticos, para las tres coordenadas L*, a* y b*, se uso un análisis estadístico de t-student no pareada, con un nivel de significancia de 95%, con el paquete estadístico STATA versión 9.

VI.2 Decoloración y degradación del efluente de teñido con grana carmín por el hongo ligninolítico

En esta prueba se utilizó el hongo ligninolítico *T. versicolor* debido a su capacidad de transformar una amplia variedad de compuestos orgánicos (Borchert y Libra, 2001). Este hongo procedió de la cepa CDBB-H-1051, del departamento de biotecnología y bioingeniería del CINVESTAV-IPN. El efluente sin esterilizar se obtuvo de la etapa de teñido de algodón con grana carmín, en esta etapa la tela de algodón ya ha pasado por la etapa de lavado y pre-mordentado. Por lo que el efluente contiene trazas de jabón, mordiente y fibra de algodón. Por otro lado la grana carmín usada para el teñido fué obtenida del centro Tlapanochestli Oaxaca, México.

VI.2.1 Cultivo en medio sólido para determinar el efecto del efluente en el desarrollo del hongo

Se disolvió agar-agar microbiológico en agua destilada, dependiendo de la concentración de efluente. La concentración de ácido carmínico en el efluente fue de 500 mg/L. El agar se esterilizó a 103.42 kPa durante 15 min. Se dejó enfriar y se mezcló con la correspondiente concentración del efluente 5, 15, 30 y 65 % (v/v) y se preparó otra mezcla sin efluente complementado con agua. El efluente se aplicó de manera directa del proceso de teñido sin tratamiento previo. Las diferentes mezclas se vaciaron en cajas petri, las cuales se prepararon por triplicado. El hongo fue crecido previamente en cajas Petri que contenían extracto de malta al 2 % a 28 ± 1 ^{o}C, durante 5 días. A partir de estas cajas se cortaron rodajas de agar-hongo de 1 cm de diámetro, con ayuda de un horadador y se inocularon en las cajas Petri que contenían el medio con efluente y sin efluente. El desarrollo del hongo se midió diariamente en función al diámetro en las cajas.

VI.2.2 Cultivo en medio líquido para determinar la decoloración del efluente por el hongo

Se prepararon cajas Petri con extracto de malta al 2 % y se inocularon con el hongo *T. versicolor*. Las cajas inoculadas se incubaron a 28 ± 1 ^{o}C, durante 5 días. Se cortaron 5 rodajas de 1 cm de diámetro del hongo ligninolítico y se colocaron en matraces con medio YPG (levadura-peptona-glucosa), con agitación durante 7 días a 28 ± 1 ^{o}C a 125 rpm. Posteriormente el hongo obtenido se filtró y se homogenizó por medio de una licuadora marca Osterizer, modelo clásica de Lux, a nivel medio, durante un tiempo de 5 s.

Se realizó el diseño experimental mostrado en la Tabla 4, de donde se obtuvieron la serie de experimentos mostrados en la Tabla 5 y los controles mostrados en la Tabla 6, a cada uno de estos experimentos se agrego el 5 % del hongo homogenizado a cada matraz de 125 ml, para el tiempo inicial y para el tiempo final de 18 días. El efluente

empleado fue el mismo que el descrito en la sección anterior (VI.2), para la decoloración del efluente en medio sólido.

Tabla 4. Diseño experimental para la decoloración del efluente de teñido de algodón en medio líquido, por el hongo ligninolítico *T. versicolor* CDBB-H-1051.

Variable	Niveles	
	Alto (+)	**Bajo (-)**
Medio Kirk	0	X
Glucosa	X	0
Hongo	X	0

0= Sin; X= Con

Tabla 5. Experimentos realizados a partir del diseño experimental para la decoloración del efluente de teñido de algodón en medio líquido, por el hongo ligninolítico *T. versicolor* CDBB-H-1051.

Exp.	Efluente (50%)	Medio Kirk (50%)	Glucosa (5g/L)	Hongo (5%)
1	X	X	0	0
2	X	0	0	0
3	X	X	X	0
4	X	0	X	0
5	X	X	0	X
6	X	0	0	X
7	X	X	X	X
8	X	0	X	X

0= Sin; X= Con

Tabla 6. Controles de los experimentos, para la decoloración del efluente de teñido de algodón en medio líquido, por el hongo ligninolítico *T. versicolor* CDBB-H-1051.

Exp.	Efluente (20ml)	Medio Kirk (20ml)	Glucosa (5g/L)	Hongo (5%)
Control 1*	X	X	0	X
Control 2*	X	X	X	X

*Muestras esterilizadas
0= Sin; X= Con

El medio Kirk modificado fue preparado de acuerdo a lo establecido por Morgan *et al*., (1991): KH_2PO_4 (0.2 g), $MgSO_4.7H_2O$ (0.05 g), $CaCl_2$ (0.01 g), NH_4NO_3 (0.024 g), 0.5 ml de la solución de vitaminas y 1.0 ml de la solución de minerales, todo lo anterior disuelto en agua desionizada hasta completar ½ litro. La solución de minerales es una mezcla de: 5000 mg de ácido nitrilotriacético, 500 mg de $MnSO_4.H_2O$, 1000 mg de NaCl, 100

mg de $FeSO_4.7H_2O$, 100 mg de $CoSO_4$, 100 mg de $ZnSO_4$, 10 mg de $CuSO_4.5H_2O$, 10 mg de $AlK(SO_4)_2$, 100 mg de H_3BO_3 y 10 mg de $NaMoO_4$, todo disuelto en un litro de agua desionizada. La solución de vitaminas contiene: 2 mg de biotina, 2 mg de ácido fólico, 5 mg de clorhidrato de tiamina, 5 mg de riboflavina, 10 mg de clorhidrato de piridoxina, 0.1 mg de cianocobalamina, 5 mg de niacina, 5 mg de pantotenato de calcio, 5 mg de ácido p-aminobenzóico, 5 mg de ácido D-L-6,8-tiótico, todo disuelto en un litro de agua desionizada.

Se realizaron dos controles con medio Kirk, con y sin glucosa, a los que también se adicionó la misma cantidad de hongo. Estos controles fueron esterilizados durante 15 min a 15 psia (Tabla 6). Para cada experimento se efectuaron tres replicas, incluyendo a los controles. Con lo que se obtuvo un total de 60 muestras para su análisis, 30 de ellas se analizaron al inicio del experimento y las otras 30 se dejaron en agitación de 125 rpm, a una temperatura de 28 ± 1 ^{o}C, durante un tiempo de 18 días, siendo analizadas una vez transcurrido dicho tiempo.

VI.2.3 Medición de peso seco del hongo, pH y porcentaje de decoloración

Para obtener el peso seco del hongo, se usó la Ecuación 4:

$$W(g/L) = \frac{(P_2 - P_1)}{V}; \qquad [4]$$

Donde P_1 = Peso del papel y P_2 = Peso de papel con el hongo seco, ambos se mantuvieron en un horno a 100 °C ± 1 ^{o}C por 24 h. V = volumen del líquido filtrado en cada muestra.

El pH, se midió en un potenciómetro a los diferentes tiempos. Para medir la decoloración se tomó la lectura de la absorbancia (A) en un espectrofotómetro (marca Jenway, modelo 6405, con un haz), con la longitud de onda correspondiente al ácido carmínico (λ= 494 nm). Para estimar el porcentaje de decoloración se empleó la Ecuación 5:

$$Decoloración(\%) = \frac{(A_0 - A)}{A_0} x100; \qquad [5]$$

Donde A_0 = Absorbancia inicial del efluente y A = Absorbancia de la solución posterior al tratamiento (Liu *et al.,* 2004).

VI.2.4 Caracterización del efluente

La caracterización fisicoquímica del agua residual obtenida en la etapa de teñido se efectuó por medio de las técnicas de análisis del Standard Methods, (1985). Los

parámetros analizados fueron sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV), sólidos suspendidos fijos (SSF, minerales), conductividad eléctrica (CE), color (ABS), potencial eléctrico (pH), demanda química de oxigeno total (DQO_t) y soluble (DQO_s). La eficiencia de degradación de los contaminantes por el hongo ligninolítico se llevó a cabo después de 11 días de incubación, comparando con la muestra inicial.

VI.2.4.1 Determinación del porcentaje de eliminación (%E)

Para los parámetros de DQOt, DQOs, SST, ABS y CE obtenidos en las caracterizaciones de los tres sistemas, se determino el porcentaje de eliminación aplicando la Fórmula 2.

$$\%E = \frac{X_1 - X_2}{X_1} x100 \qquad [6]$$

Donde X_1 toma los valores de SST, SSV, SSF, CE, ABS, DQOt, DQOs, para el influente y X_2 puede toma los valores de SST, SSV, SSF, CE, ABS, DQOt, DQOs, para el efluente.

VI.2.5 Tratamientos preparados en medio líquido para sus análisis de degradación

De la sección V.2.2, se escogieron tres de los experimentos en los que se obtuvo la mayor decoloración los cuales fueron 5, 7 y 8. Se repitió nuevamente la metodología anterior para estos experimentos, se consideró la presencia y ausencia de medio, y la adición y no adición de glucosa en el sistema (Tabla 7). A

Tabla 7. Experimentos y control, realizados para la degradación de un efluente textil, en medio líquido con el hongo ligninolítico *T. versicolor* CDBB-H-1051.

Exp.	Efluente (50 %)	Medio Kirk (50 %)	Glucosa (5 g/L)	Hongo (5 %)
5	X	X	0	X
7	X	X	X	X
8	X	0	X	X
Control	X	X	X	0

K= Medio Kirk; A= Medio Agua; S= Sin; C= Con

Los experimentos sin medio Kirk, se les agregó agua destilada estéril. Los experimentos fueron: medio Kirk sin glucosa y hongo (K+F*)* (experimento 5), medio Kirk con glucosa y hongo (K+G+F*)* (experimento 7), sin medio con glucosa y hongo (W+G+F) (experimento 8). A cada uno de estos se adicionó 50 % (v/v) del efluente sin esterilizar, obtenido de la etapa de teñido de algodón con grana carmín. A los tratamientos que contenían hongo

(F) se les agregó 5 % (p/v) de inóculo y para los que tenían glucosa (G) se agregaron 5 g/L (Tabla 7). Cada uno se elaboró por triplicado para cada uno de los días de muestreo (en total 54 matraces). A estos se les midió pH, absorbancia y peso seco del hongo, a los tiempos 0, 1, 4, 6, 8 y 11 días. Además se preparó un control con medio Kirk y glucosa sin hongo (K+G) y se le efectuaron los mismos análisis que a los tratamientos. El control sólo se analizó al inicio y al final del experimento (0 y 11 días).

VI.2.6 Análisis de la degradación del extracto de la grana carmín contenido en el efluente

La degradación del extracto de la grana carmín contenido en el efluente se analizó a través de cromatografía utilizando un cromatógrafo de líquidos marca Agilent, serie 1200 (HPLC., High-performance-liquid-chromatography), con detector UV-Visible, arreglo de diodos, bomba cuaternaria, desgasificador en flujo, automuestreador 5-100 µl. Con los siguientes datos: velocidad de flujo de 0.6 ml/min, longitud de onda de 495 nm, volumen de muestra introducido de 10 µl, columna: Agilent Eclipse AAA, con tamaño de partícula de 3.5 µm, con dimensiones de la columna de 3.0 X 150 mm. Con composición de la fase móvil de ácido fosfórico 1mM (pH 2.5) y acetonitrilo a diferentes concentraciones en función al tiempo (0 a 15 min). Considerando un tiempo de retención del ácido carmínico de 10.2 min. Se realizaron los análisis de cromatografía de líquidos a los tratamientos 5, (K+F); 7, (K+G+F); 8, (W+G+F) y control, (K+G), para un tiempo inicial (t=0 días) y para el tiempo final (t=11 días). Además se obtuvieron los perfiles de degradación, del tratamiento agua con glucosa 8, (W+G+F). Se utilizó un espectrofotómetro marca 3000 Array Milton Roy modelo LR 45227, para la determinación previa del intervalo de trabajo con el que se debía realizar el análisis de cromatografía.

VI.2.7 Cinética de degradación

Del análisis de los cromatogramas, en función a la desaparición gradual del pico del ácido carmínico (AC, t_R= 10.2 min). Se aplicó el modelo matemático de Newton (Ecuación 6), para determinar la cinética de degradación del ácido carmínico, en el tratamiento que se logró una disminución mayor del mismo.

$$y = Ce^{-Kdt}; \qquad [6]$$

Donde *Kd* = Velocidad de degradación expresado en días^{-1}.

VI.2.8 Pruebas de toxicidad

Al tratamiento con la mayor decoloración y degradación (experimento 8), se realizó el análisis de toxicidad a los 11 días. Este análisis se llevó a cabo con *Vibrio fischeri* (*Photobacterium phosphoreum*), mediante la norma NMX-AA-112-SCF1-1995, por un

laboratorio acreditado en la Ciudad de Cuernavaca Morelos. La prueba de toxicidad utiliza a la bacteria luminiscente, *P. phosphoreum,* consiste en exponer bajo condiciones controladas a una población de bacterias (Saldaña *et al*. 2002). Las bacterias emiten luz en condiciones normales, sin embargo con la presencia de un tóxico en la muestra, la emisión de luz que produce este organismo disminuye de forma proporcional a la concentración de los contaminantes de la muestra obteniéndose la concentración efectiva que mata al 50 % de la población (CE_{50}) (Saldaña *et al*.; NMX-AA-112-SCF1-1995). El efecto es calculado en términos porcentuales respecto al abatimiento de la emisión de luz. Posteriormente para calcular las unidades de toxicidad (UT), se divide cien entre la concentración efectiva media ($100/CE_{50}$) (Saldaña *et al*. 2002).

VII. Resultados y Discusión

VII.1 Teñido de la tela de algodón con grana carmín y solidez del color

Los resultados obtenidos en la evaluación del color de los diferentes experimentos de teñido en algodón con grana carmín, en función al área cromática CIELab, se muestran en la Tabla 8. Cada valor corresponde al promedio de la evaluación de tres puntos por medio del colorímetro, para tres replicas.

Tabla 8. Evaluación del color por medio del colorímetro de la tela teñida de la serie de experimentos.

No. Exp.	Evaluación del color de la serie de experimentos		
	L*	a*	b*
1	48.97±1.14	39.46±1.07	-3.94±0.23
2	55.81±1.02	33.95±1.07	-3.10±0.07
3	43.81±0.33	44.64±0.16	-4.03±0.55
4	55.02±2.15	35.80±2.61	-2.21±0.21

VII.1.1 Comportamiento del color, fuerza de color y absorbancia en función de la concentración de los mordientes

La tela de algodón fue teñida con grana carmín para establecer la factibilidad de teñido de la misma en presencia de diferentes mordientes. Se determinó el color de las telas con el colorímetro, para definir cuál de las telas presentaba la mayor intensidad de color rojo. El experimento 3, con una concentración de 25 % de $AlK(SO_4)_2.12H_2O$, 10 % de Na_2CO_3 y 20 % de $C_{76}H_{52}O_{46}$, mostró el tono rojo y oscuro más alto, también presentó el tono azul más alto (Figura 8).

En la Figura 9 se muestra el resultado obtenido en el cálculo de la fuerza del color, en esta se observa que el experimento 3, se obtuvo el valor más alto de la fuerza del color, seguido de los experimentos 4, 1 y finalmente el experimento 2, con el valor más bajo en la fuerza del color, esto comprueba los resultados de la Figura 8. Este último valor corresponde con el valor más alto de la absorbancia del extracto de cochinilla seca (525 nm; Figura 10).

Al comparar el experimento 1 contra el experimento 2 y el experimento 1 contra el experimento 4, se observó en ambas comparaciones una disminución en los tonos rojo y azul y la claridad del color aumento. Sin embargo al comparar el experimento 1 contra el experimento 3, se observó que aumentó el tono rojo y el oscuro, y el tono azul se mantuvo igual al original.

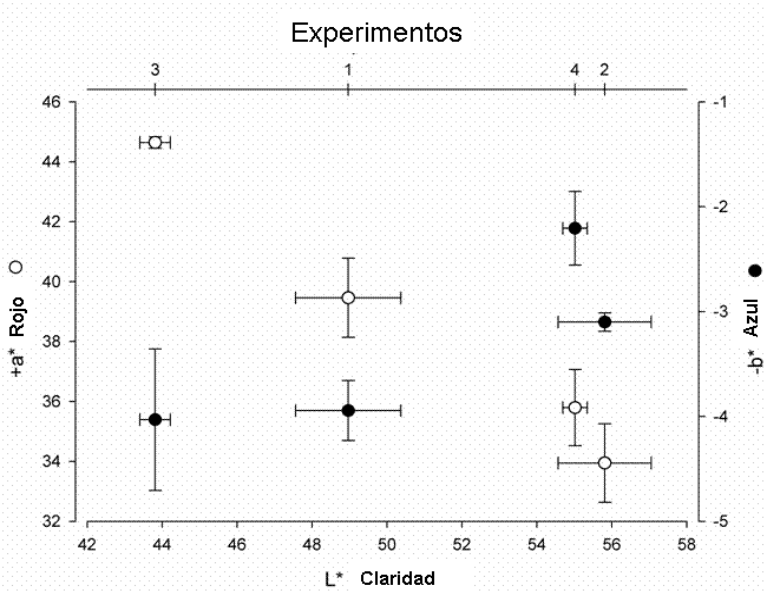

Figura 8. Color para las coordenadas a*, L* y b* de la tela de algodón teñida con grana carmín para los cuatro experimentos. Se muestra el comportamiento del tono al cambiar la concentración en los mordientes. Las barras representan la desviación estándar de tres replicas.

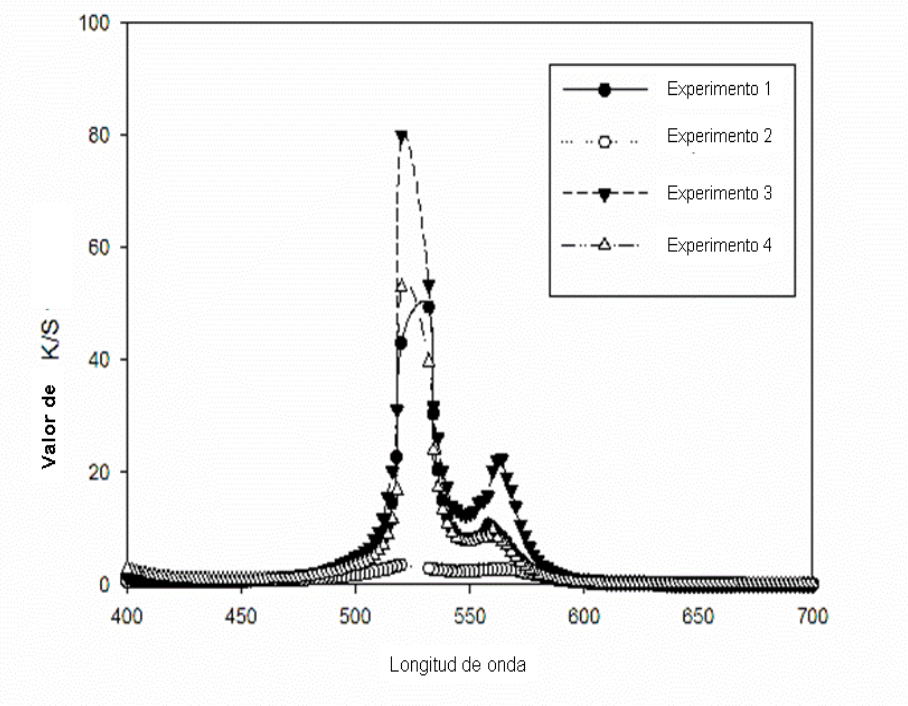

Figura 9. Grafica que muestra los valores obtenidos en el cálculo de la fuerza del color (K/S), en función a la longitud de onda, para los cuatro experimentos.

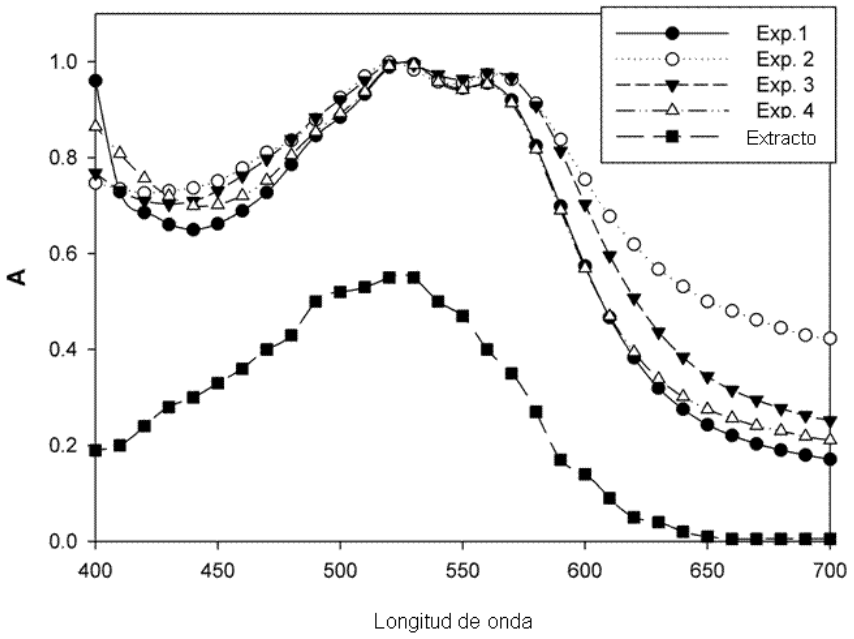

Figura 10. Espectro visible en la tela de algodón teñida para los cuatro experimentos, así como el espectro visible del extracto usado en el proceso de teñido en una dilución 1/10.

La diferencia de estos experimentos se comprueba en el análisis estadístico presentado en la Tabla 9, al comparar cada uno de los experimentos con los otros tres, para las coordenadas L*, a* y b*, siendo las de mayor interés las coordenadas L* y a*. Para la coordenada L*, se observó que los experimentos 1 con respecto a los otros cuatro y el experimento 3 con respecto a los otros cuatro, mostraron la mayor diferencia significativa, ($P \leq 0.05$, $\alpha=0.05$) (Tabla 9).

Mientras que los experimentos 2 y 4, no presentaron diferencia significativa entre ellos ($P = 1.000$; $\alpha=0.05$) (Tabla 9). Para la coordenada a*, los experimentos 1 y 2 ($P = 0.030$; $\alpha=0.05$), 1 y 3 ($P = 0.050$; $\alpha=0.05$), mostraron la mayor diferencia significativa entre ellos ($P \leq 0.05$, $\alpha=0.05$) (Tabla 8). Mientras que los experimentos, 1 y 4 ($P = 0.493$; $\alpha=0.05$), 2 y 4 ($P = 1.000$; $\alpha=0.05$), no presentaron diferencia significativa entre ellos (Tabla 9). En ambas coordenadas no se presentó diferencia significativa entre los experimentos 2 y 4, por lo que si se adiciona una menor cantidad de $C_{76}H_{52}O_{46}$ y una menor cantidad de $AlK(SO_4)_2.12H_2O$, dentro del proceso de mordentado, la tela teñida tiene el mismo comportamiento con respecto al tono.

Tabla 9. Resultados de la diferencia estadística de cada uno de los 4 experimentos de teñido, con respecto a los otros 3, para las coordenadas L*, a* y b* (.$p \leq 0.05$, $\alpha = 0.05$).

L*							
Exp. 1		**Exp. 2**		**Exp. 3**		**Exp. 4**	
Relación Exp.	*P*	Relación Exp.	*P*	Relación Exp.	*P*	Relación Exp.	*P*
2	0.001	1	0.001	1	0.018	1	0.004
3	0.018	3	0.000	2	0.000	2	1.000
4	0.004	4	1.000	4	0.000	3	0.000
a*							
Exp. 1		**Exp. 2**		**Exp. 3**		**Exp. 4**	
Relación Exp.	*P*	Relación Exp.	*P*	Relación Exp.	*P*	Relación Exp.	*P*
2	0.030	1	0.030	1	0.050	1	0.493
3	0.050	3	0.000	2	0.000	2	1.000
4	0.493	4	1.000	4	0.000	3	0.000
b*							
Exp. 1		**Exp. 2**		**Exp. 3**		**Exp. 4**	
Relación Exp.	*P*	Relación Exp.	*P*	Relación Exp.	*P*	Relación Exp.	*P*
2	0.279	1	0.279	1	1.000	1	0.001
3	1.000	3	0.148	2	0.148	2	0.196
4	0.001	4	0.196	4	0.000	3	0.000

En este trabajo se comprobó que existe una variación del color en las coordenadas L*, a* y b*, de la escala CIELab en función a la concentración de los mordientes, dentro del pre-mordentado en el proceso de teñido con colorantes naturales. Michael *et a*l., (2003) concluyeron también que el cambio de color en las coordenadas L*, a* y b*, depende de la concentración con la que se aplican los mordientes en el proceso de teñido. Además de que los mordientes son los responsables de la fijación del color en la tela, cambiando a su vez el color dependiendo del mordiente empleado (Michael *et a*l., 2003). Asimismo Shander y Vankar, (2007) encontraron que se presenta diferencia en las coordenadas L*, a* y b* de la escala CIELab, en función a los distintos mordientes usados en el teñido de las fibras de algodón, lana y seda con el colorante natural Gulzaba. Esto también fue comprobado por Vankar *et al*., (2006) al demostrar que se presentan cambios en el color de la tela de algodón teñida con rubia, con el uso de diferentes mordientes sintéticos ($CuSO_4$, $FeSO_4$ y Al). Lo anterior apoya lo encontrado en el teñido de algodón con grana carmín. La forma en la que ocurre la adhesión del color que imparte la grana del carmín sobre la tela de algodón no es clara aún. Se piensa que al contar con una mayor cantidad de iones metálicos en la etapa de mordentado de las sales, mayor sea la fijación del color de la grana carmín en la tela de algodón. Lo anterior por el efecto que presentaron las diferentes concentraciones de los mordientes estudiados en el teñido de algodón.

Por otro lado, se encontró que entre mayor sea la cantidad de iones hidrógenos conferidos por los ácidos usados en la etapa de mordentado, mayor será el tono rojo de la tela de algodón teñida con grana carmín. Esto nos hace proponer un modelo para explicar lo que ocurre durante el proceso de teñido con grana carmín sobre algodón. En el modelo que se propone ocurren dos eventos al parecer de manera concurrente. La estructura de la fibra del algodón está constituida por 90% de celulosa y esta a su vez, tiene una gran cantidad de moléculas de glucosa (Hollen *et al*., 2005).

En la etapa de mordentado, pueden ocurrir dos hechos dependiendo del tipo de mordiente utilizado. Cuando se utiliza el $AlK(SO_4)_2.12H_2O$, se piensa que los hidroxilos presentes en la glucosa del algodón pueden unirse ya sea mediante puentes de hidrógeno a los iones metálicos (Al^{+3}), o bien por sustitución de los hidrógenos de los iones hidroxilo de las moléculas de glucosa del algodón, formando grupos alcóxidos con el aluminio (Michael *et a*l., 2003). Ocurre algo similar cuando se emplea el $C_{76}H_{52}O_{46}$ o Na_2Co_3. Sólo que en estos casos se obtienen sustituciones del hidrógeno protónado (H^+) (para el ácido) o del hidroxilo (para ambos casos), con formación de agua. El otro evento sería la atracción del color hacia el mordiente. El aluminio atraería a los iones hidroxilos de la estructura del ácido carmínico (grana carmín), que es una antraquinona natural con un radical glucósido, permitiendo que el color se fije en la tela de algodón (Figura 11). Igual que con los iones metálicos (Al^{+3}) sucede cuando se usan mordientes con diferentes iones tales como Fe ó Cu, en cuyos casos cambia el valor en las coordenadas L*, a* y b* afectando el color final (Bechtold *et al*., 2007; Vankar *et al*., 2006). Con el $C_{76}H_{52}O_{46}$ la fijación depende de la cantidad de iones hidrógeno presente.

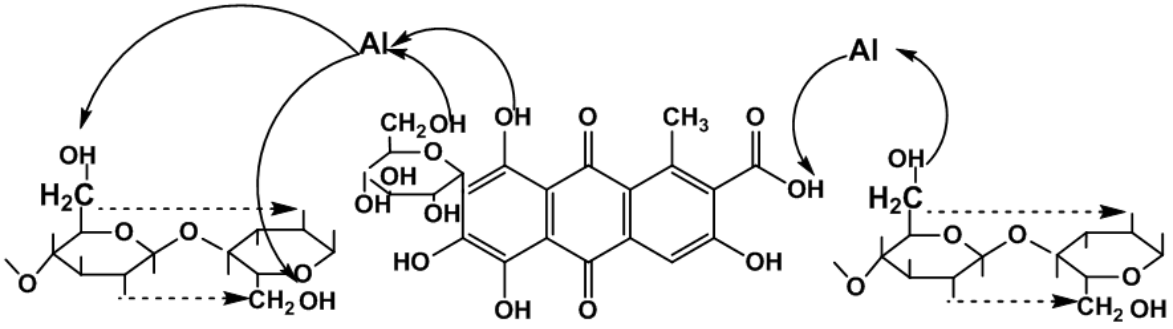

Figura 11. Posible interrelación de los iones dentro de la tela de algodón de celulosa, las sales del mordiente y el extracto del colorante natural de cochinilla (ácido carmínico). La flechas indican algunos grupos probables que pueden formar quelatos con el ión metálico, al mismo tiempo unirse con algún posible grupo de la molécula de ácido carmínico.

El color rojo probablemente es obtenido por la acción que tienen los hidrógenos de este ácido, sobre los iones hidroxilo en la estructura del ácido carmínico de la grana carmín. Algo similar ocurre cuando se utiliza Na_2Co_3, pero en este caso se modifica la tonalidad azul tomando un tono morado. También, se encontró que el ácido puede servir como

reactivo cationizante permitiendo que las sales entren en la fibra de algodón para después fijar el colorante (Eom *et al*., 2001). Por lo que se sospecha que este ácido tiene doble acción sobre la tela, una de ellas es el cambio de tono a un color más rojo y otra es la fijación del color en la tela. Con lo que se concluye que la solidez del color de la grana en la tela dependerá del mordiente y la concentración del mismo, usado durante el proceso de teñido. Esto se confirmó en base a los resultados logrados en las pruebas de solidez aplicadas a la tela de algodón.

VII.1.2 Caracterización de la tela

VII.1.2.1 Tela original y tela lavada

La tela original después de la fase de lavado no muestra diferencias con la tela original, se ve lisa y sin impurezas como se observa en la Figura 12.

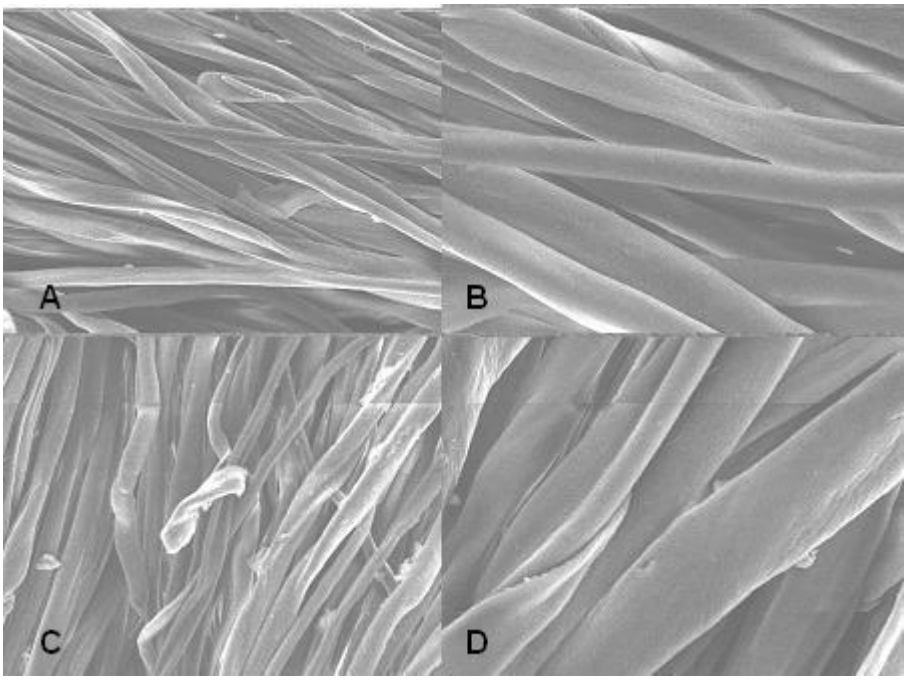

Figura 12. Micrografía electrónica de barrido para la tela de algodón lavada: A. 500X y B. 1000X y la tela original sin ningún proceso: C. 500X y D. 1000X.

VII.1.2.2 Tela original y tela premordentada

Desde el primer mordentado se comienzan a ver las pequeñas impurezas (Figura 13). Las muestras de la tela de algodón en el segundo y tercer mordentado así como la

muestra teñida se observan similares, es decir se aprecian las pequeñas impurezas en comparación a la tela original donde no se distinguen estas partículas (Figura 13).

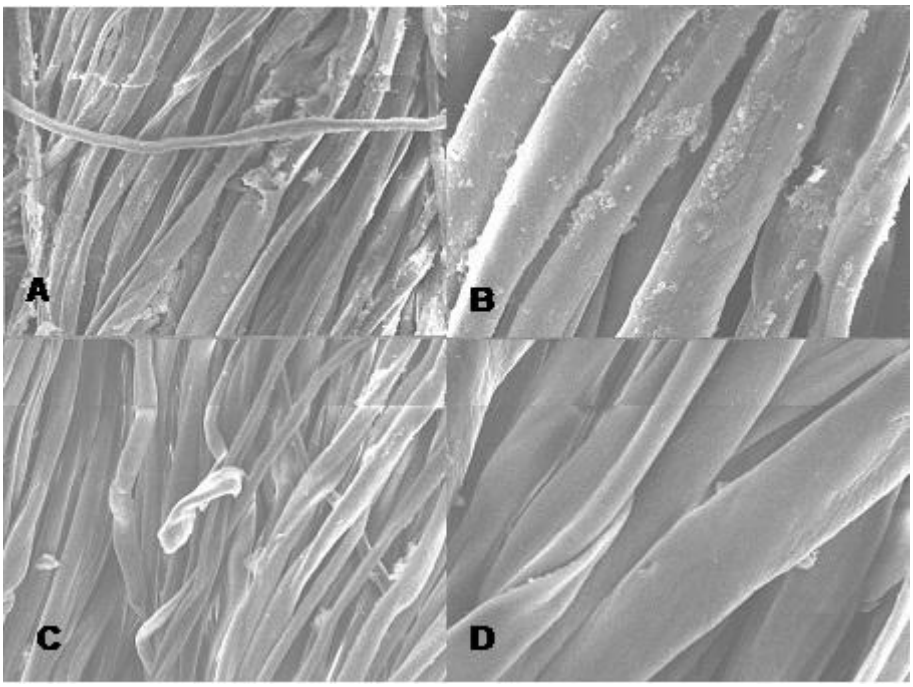

Figura 13. Micrografía electrónica de barrido para la tela de algodón en el primer mordentado: A. 500X y B. 1500X y la tela original sin ningún proceso: C. 500X y D. 1000X.

VII.1.2.3 Tela original y tela teñida

En las imágenes del microscopio de barrido se observó diferencia entre la tela original sin ningún proceso y la tela teñida final con el proceso de teñido con el colorante natural grana carmín como era de esperarse (Figura 14). La tela de algodón original se observa más limpia y lisa, la tela teñida se observa con pequeñas impurezas, estas micrografías muestran mucha similitud con las micrografías de la tela final teñida. Por lo que las partículas que se observan probablemente sean debidas al tratamiento que se le da a la tela de algodón para que fije el colorante en la etapa de pre-mordentado. La tela de algodón teñida de los experimentos 1 al 4, se observó igual, no se muestran estas micrografías. Estas micrografías son similares a las mostradas por Allam *et al*., (2009), en donde presenta de la lana antes de ser tratada y su posterior tratamiento, mostrando partículas similares a las que se observan en las micrografías presentadas en esta investigación realizada con algodón. Para el teñido de algodón con colorantes sintéticos generalmente se realiza una cationización a la fibra, pero en el caso de los colorantes naturales esta no se efectúa, debido a que estos contienen por si mismos agentes cationizantes.

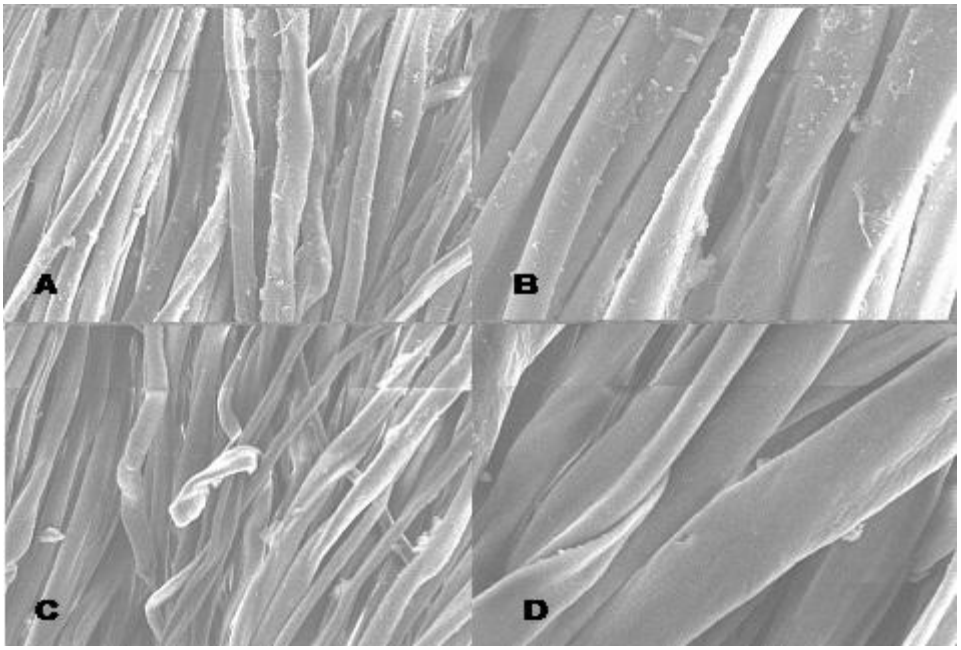

Figura 14. Micrografía electrónica de barrido para la tela de algodón teñida: A. 500X y B. 1000X y la tela original sin ningún proceso: C. 500X y D. 1000X.

VII.1.3 Pruebas de Solidez del color

VII.1.3.1 Solidez del color a ácidos y álcalis

Al aplicar la prueba de solidez a ácidos sobre las telas teñidas de los cuatro experimentos se encontró que no hubo diferencia significativa entre ellas (Figura 15A). Todos los pedazos de tela teñidos mostraron aproximadamente los mismos valores en las coordenadas ΔL^*, Δa^* y Δb^*, en función a las barras de error. Para la prueba de solidez a álcalis, los trozos de la tela teñida de tres de los experimentos mostraron valores muy parecidos en las coordenadas ΔL^* y Δa^*. Una excepción fue el experimento 2 cuyo valor en ΔL^* y Δa^* fue mayor que los otros tres (44 % y 51 % respectivamente), obteniendo un tono menos rojo y más oscuro (Figura 15B).

Con respecto a la escala de grises para la solidez a ácidos, los experimentos 1 y 3 presentaron un grado más arriba en comparación con los experimentos 2 y 4 (Tabla 10). Mientras que en la solidez a los álcalis los experimentos 3 y 4 tuvieron un grado más arriba que el experimento 1 y dos grados más arriba que el experimento 2 (Tabla 10).

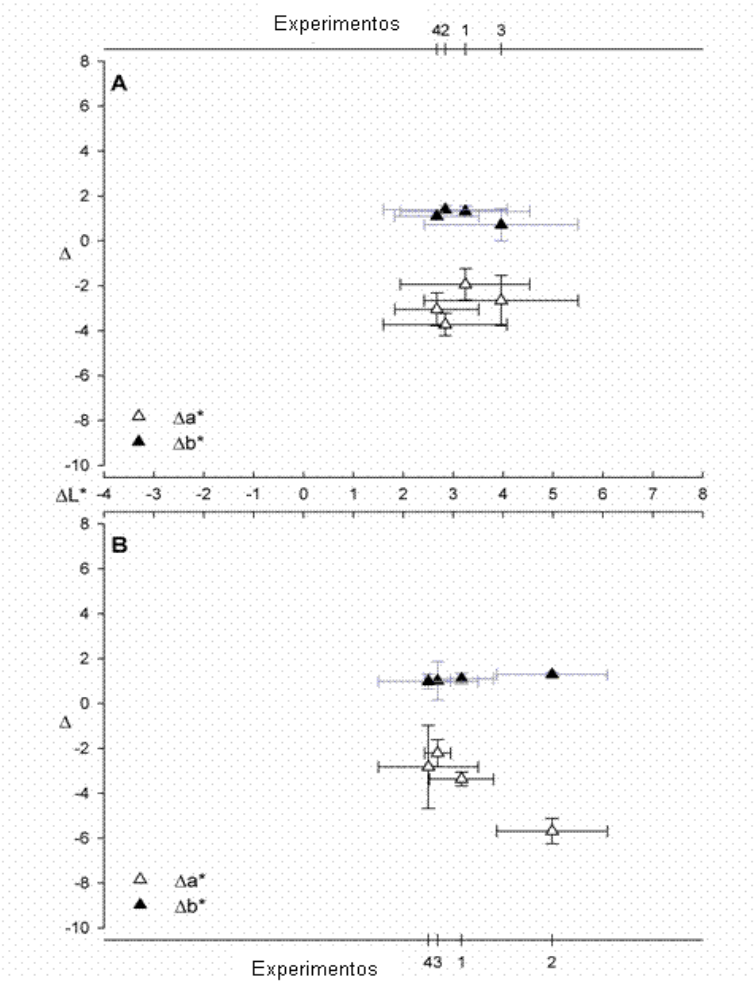

Figura 15. Grafica de Δa*, ΔL* y Δb* muestra la tendencia de las diferencias de los tonos de las pruebas de solidez a: ácidos (A), álcalis (B). Las barras representan la desviación estándar de tres replicas de cada experimento.

Tabla 10. Valores en la escala de grises, para las pruebas de solidez realizada a la tela de algodón teñida con el extracto de grana carmín.

Pruebas de solidez	**Cambio de color Escala de grises**			
	Experimentos			
	1	**2**	**3**	**4**
Ácidos	3	3-4	3	3-4
Álcalis	3	2-3	3-4	3-4
Temperatura alta	2-3	3	2	2-3
Lavado doméstico	2-3	2	2	3-4
Luz artificial	5	4-5	5	3-4
Frote en seco	4-5	4-5	4-5	5

VII.1.3.2 Solidez del color a altas temperaturas

La tela teñida de los experimentos 1, 2 y 3 no presentan diferencias significativas en las tres coordenadas (Figura 16A). En relación con la escala de grises todos los experimentos presentaron un grado más que el experimento 3 (Tabla 10). Por lo que el comportamiento en la solidez es la misma para la tela teñida en los tres experimentos sin que este determinado por el cambio en la concentración de los mordientes dentro del proceso de teñido, aunque estos si determinen el tono de la tela.

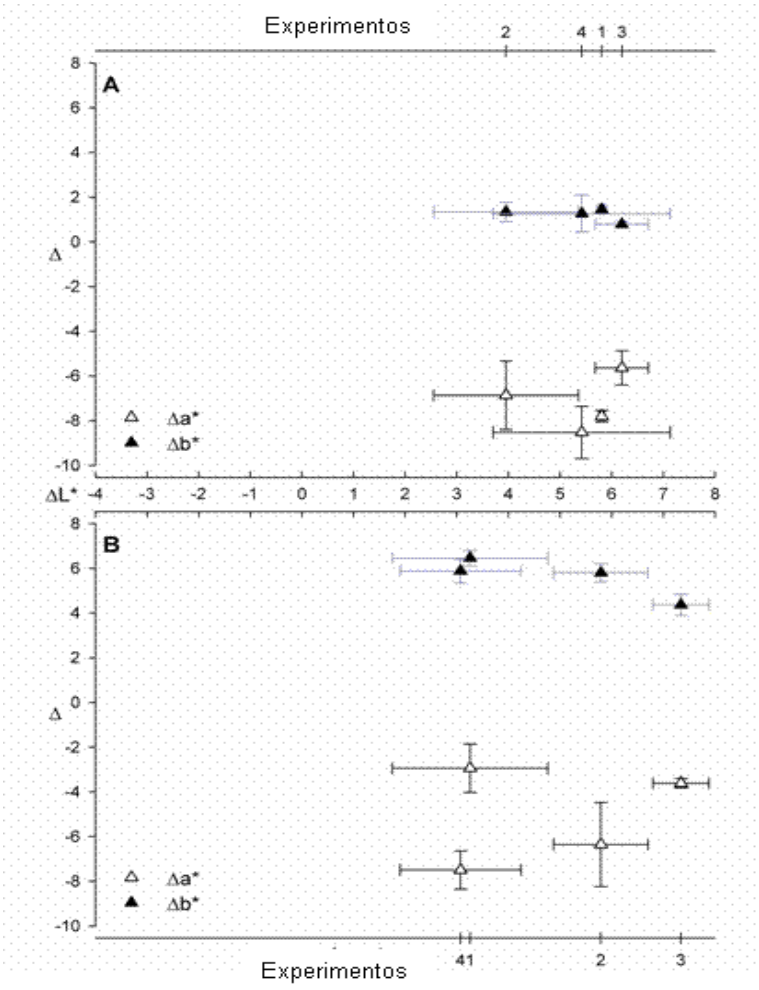

Figura 16. Grafica de Δa*, ΔL* y Δb* muestra la tendencia de las diferencias de los tonos de las pruebas de solidez a: temperatura 60°C (A), lavado doméstico (B). Las barras representan la desviación estándar de tres replicas de cada experimento.

VII.1.3.3 Solidez del color al lavado doméstico

La tela teñida que presentó la menor diferencia fue el experimento 1, se encontró en el extremo inferior derecho de la grafica (Figura 16B), sin diferencia significativa en ΔL^* con el experimento 4 y en Δa^* con el experimento 3 (Figura 16B). En la escala de grises todos los experimentos presentaron un grado menos que el experimento 3, excepto el experimento 4 que tuvo grado 3-4 (Tabla 10). Siendo esta la única prueba en la que se observó que influyó la concentración de los mordientes por ser la que contenía la mayor concentración de los mismos. Esto último confirmó lo encontrado por Vankar *et al*., (2006) para lino, al emplear iones metálicos para impartir mejores propiedades de solidez. El detergente biodegradable es de carácter aniónico ya que contiene un surfactante aniónico lineal (sulfonato lineal de alquil benceno). Este es preparado mediante el ácido sulfónico de alquil benceno con carbonato de sodio. El carácter aniónico del detergente afectó directamente las cargas positivas (iones metálicos), presentes en la tela de algodón teñida con grana carmín, separando el colorante fijado en la tela.

VII.1.3.4 Solidez del color a la luz artificial

Se encontró que para esta prueba no existe diferencia significativa en las telas teñidas de los cuatro experimentos para todas las coordenadas, en función a las barras de error (Figura 17A). Por lo que el cambio en la concentración de los mordientes no afectó esta prueba. Siendo que lo que puede afectar a la solidez del color a la luz es el tipo de mordiente, así como la concentración del colorante, resultados similares a los encontrados por Cristea y Vilarem, (2006). Esto debido a la formación de diferentes complejos entre el mordiente y el colorante, lo cual puede incidir sobre la solidez del color a la luz por el efecto catalítico positivo o negativo en la degradación fotoquímica del colorante (Cristea y Vilarem, 2006). En relación con la escala de grises en la prueba de solidez a la luz artificial; los experimentos 1 y 3 consiguieron el grado 5; mientras experimento 2, obtuvo un grado 4-5 y finalmente el experimento 4 el grado 3-4 (Tabla 10).

VII.1.3.5 Solidez del color al frote en seco

En esta prueba no hubo ninguna diferencia entre las telas teñidas de los cuatro experimentos para todas las coordenadas ΔL^* y Δa^*, todos los puntos de los cuatro experimentos se encontraron empalmados, lo mismo se presento en la coordenada Δb^* (Figura 17B). En relación con la escala de grises para esta prueba, los grados conseguidos de los experimentos 1, 2 y 3 fue de 4-5; y para el experimento 4 el grado 5 (Tabla 10). Por lo tanto los cambios en la concentración de los mordaces no afectaron a esta prueba.

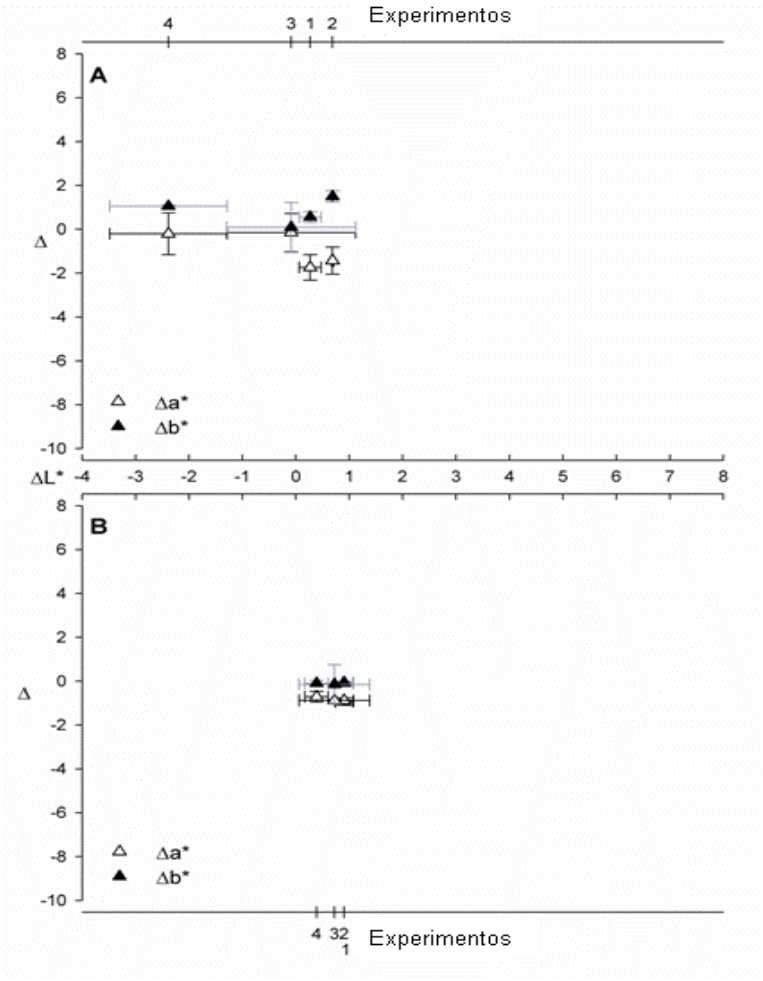

Figura 17. Grafica de Δa*, ΔL* y Δb* muestra la tendencia de las diferencias de los tonos de las pruebas de solidez a: luz artificial (A) y frote en seco (B). Las barras representan la desviación estándar de tres replicas de cada experimento.

VII.1.4 Tendencia promedio en las pruebas de solidez

Debido a que las diferencias en color entre los cuatro procesos de pre-mordentado no fueron en general significativas (Figuras 15A y B, 16A y B, 17A y B), se procedió a tomar el promedio de las diferencias en cada coordenada para cada prueba de solidez y hacer una comparación global entre las cinco pruebas de solidez (Figura 18). Para considerar buena resistencia a la prueba de solidez, el cambio en las coordenadas L* y a* debe tender a cero. A mayor diferencia mayor es el impacto de la prueba de solidez sobre la estabilidad del color rojo y del tono oscuro en la tela de algodón. Se observó que los cuatro experimentos mostraron en promedio la misma tendencia de cambio de color con respecto a la tela teñida original (Figura 18). En la grafica promedio para las pruebas de ácidos y álcalis, se pudo observar que no existió diferencia significativa, en función a las barras de error (Figura 18). Los cuatro experimentos presentaron la misma solidez a ácidos y álcalis, se concluyo que no afectó el cambio de la

concentración de los mordientes en el proceso de teñido, aunque la tela si presento un cambio en el tono del color. La prueba de solidez a temperaturas altas fue la que más afectó al color rojo en la tela de algodón teñida con grana, al presentar la mayor diferencia promedio en la coordenada ∆a* (-7.21 ± 0.93) (Figura 18). Esto también se puede observar en la escala de grises (Tabla 10).

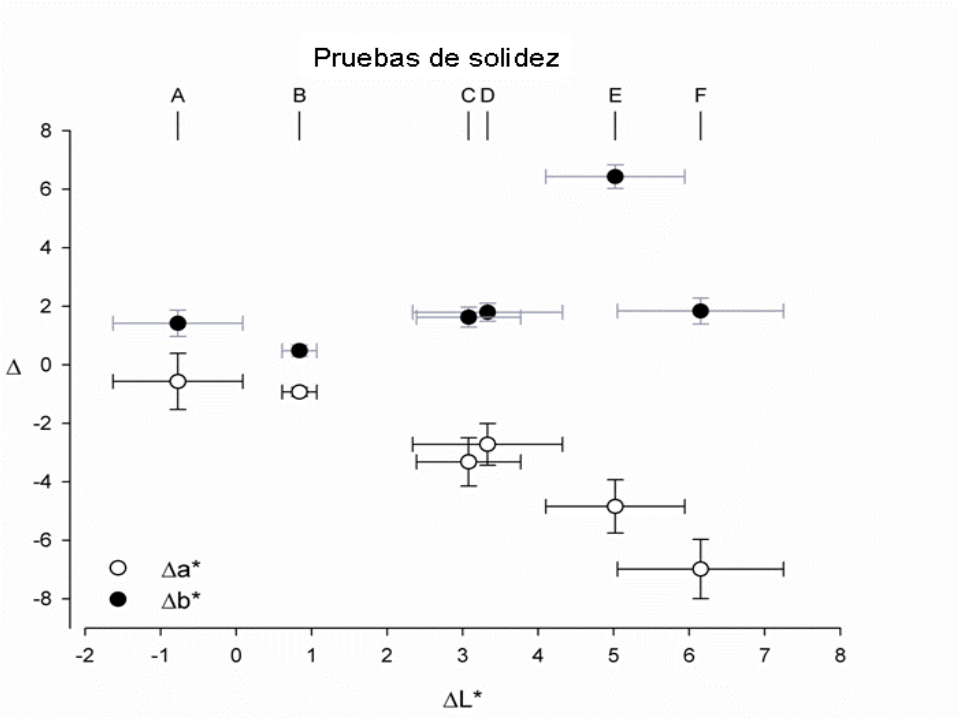

Figura 18. Resultados promedio de ∆L*, ∆a*, y ∆b*, para cada una de las pruebas: A. luz artificial (20h), B. frote en seco, C. álcalis, D. ácidos, E. lavado doméstico y F. temperatura de 60 °C. Las barras representan la desviación de las seis pruebas de solidez.

La prueba de solidez al lavado doméstico no presentó diferencias significativas con respecto a la prueba de solidez a ácidos y álcalis en las coordenadas ∆L* y ∆a* (Figura 16). Tampoco con respecto a la prueba de solidez a temperaturas altas en la coordenada ∆L*, pero si presentó diferencia significativa en la coordenada ∆a* con respecto a la prueba de solidez a temperaturas altas (Figura 18). Sin embargo para ambos casos si presentó diferencia significativa en la coordenada ∆b*. La prueba de solidez a la luz artificial junto con la prueba de frote en seco, son las que presentaron la mejor solidez de las telas teñidas para todas las coordenadas de los cuatro experimentos (Figura 18). Obteniendo una tendencia decreciente de solidez del color en el siguiente orden: la luz artificial > frote en seco > ácidos y álcalis > lavado doméstico > agua caliente.

Sarkar y Seal, (2003), realizaron también pruebas de solidez al lavado doméstico, frote en seco y sudor, en muestras de lino teñidas con cuatro diferentes colorantes naturales,

entre los que se encontraba el colorante natural grana carmín. Ellos emplearon procesos de teñido de pre-mordentado y meta mordentado (Sarkar y Seal, 2003). En dicho trabajo reportaron una buena estabilidad del colorante grana carmín en el lino y encontraron que usando el proceso de pre-mordentado en el teñido se aumentaba las propiedades de solidez de la tela teñida con grana. Esto se confirma en este trabajo con la tela de algodón, al utilizar el método de pre-mordentado para el proceso de teñido con grana carmín.

VII.1.5 Solidez del color en la tela de algodón teñida con colorantes sintéticos

Los valores del color para la escala, encontrados para la tela original de algodón teñida con los colorantes sintéticos fueron: 37.19±0.13 (L*), 59.54±0-04 (a*), y 36.57±0.04 (b*). Los valores del color encontrados para la tela de algodón teñida con grana carmín fueron: 43.81±0.33 (L*), 44.64±0.16 (a*) y -4.03±0.55 (b*). Estos valores indican que se lograron tonos desiguales ya que aunque la tela sea la misma, el proceso de teñido del algodón cuando se aplican colorantes naturales, es diferente por naturaleza al proceso de teñido cuando se aplican colorantes sintéticos. Esto debido a la estructura química de los colorantes naturales, ya que presentan cambios bruscos a altas temperaturas (Vigueras y Portillo, 2004). Por lo que es preciso adaptar el proceso usado para el teñido de algodón con grana carmín, al equipo de la industria moderna y seleccionar los materiales óptimos del proceso (mordientes), que permitan obtener una buena estabilidad en el color, esto de acuerdo a lo expuesto por Bechtold *et al*., (2007). Con lo que respecta al mordiente en comparación con los colorantes sintéticos, la mayoría de colorantes naturales requieren de mordientes o fijadores que pueden ser de origen natural o químico (Vigueras y Portillo, 2004). Igualmente Cristea y Vilarem, (2006), exponen que es muy importante el mordiente y el proceso de mordentado para la solidez del color a la luz, debido a que el ión metálico del mordiente, puede tener un efecto catalítico positivo o negativo en la degradación fotoquímica del colorante.

Se determinó el color de la tela de algodón, después de realizar las pruebas de solidez.
Después de realizar las pruebas de solidez a cambios de pH (ácidos y álcalis), temperaturas altas y lavado doméstico, a la tela de algodón teñida con grana carmín y a la tela de algodón teñida con la tricromía de colorantes sintéticos, se determinó el color de la tela de algodón antes y después de realizadas las pruebas de solidez, posteriormente se determino el porcentaje de color perdido en la misma. En la Tabla 11 se muestra el porcentaje de color perdido, para ambas telas correspondientes a las coordenadas L*, a* y b*, con su respectiva desviación estándar. En el mismo cuadro se observa también los resultados del análisis estadístico. Para el caso de la prueba de solidez a cambios de pH, en lo que respecta a ácidos entre el porcentaje de color perdido para ambos colorantes, no hay diferencia significativa en las coordenadas L* y b* (p=0.0555 y p=0.1903, respectivamente), pero si existe diferencia en la coordenada a* (p=0.0482). Para la prueba de solidez ante álcalis no hay diferencia significativa en b* (p= 0.1959), pero si en L* y a* (p= 0.0008 y p= 0.0088, respectivamente). Para los casos de las pruebas de solidez a temperaturas altas y lavado doméstico, se encontraron las mayores diferencias significativas para todas las coordenadas (Tabla

11), dichas pruebas a pesar de que afectan la solidez del color en ambas telas teñidas con los diferentes colorantes, afectan más a la tela teñida con la grana carmín. Se puede notar que hay muy poca pérdida de color en la tela de algodón teñida con colorantes sintéticos. Aún así, en general el comportamiento de los resultados del porcentaje de color perdido en las pruebas de solidez para la tela de algodón teñida con colorantes sintéticos, es el mismo que para la tela de algodón teñida con grana carmín. Ya que se observa que las pruebas de solidez que más afectan el color de la tela son la solidez a temperaturas altas y al lavado doméstico.

Tabla 11. Porcentaje de color perdido en la tela de algodón teñida con grana carmín y en la tela de algodón teñida con una tricotomía de colorantes sintéticos.

Prueba de solidez	**C**	**Porcentaje de color perdido (%)**			***t* student (*p*)**		
		L*	**a***	**b***	**L***	**a***	**b***
Ácidos	Gc	7.01±0.59	4.50±0.43	25.38±2.00			
	Cs	3.42±0.83	1.83±0.25	6.48±0.78	0.0555	0.0482	0.1903
Álcalis	Gc	6.14±0.65	4.95±1.33	34.04±1.87			
	Cs	2.48±0.28	1.27±0.07	5.49±0.37	0.0008	0.0088	0.1959
Temp. alta	Gc	14.21±1.11	12.63±1.78	21.56±1.51			
	Cs	2.79±0.46	1.66±0.31	4.45±0.88	0.0082	0.0165	0.0017
Lavado doméstico	Gc	17.21±1.21	14.34±1.76	127.96±3.33			
	Cs	3.20±0.66	1.77±0.15	4.83±0.32	0.0001	0.0005	0.0000

Gc. Grana carmín, Cs. Colorante sintético. α=0.05

VII.2 Decoloración y degradación del efluente de teñido con grana carmín por el hongo ligninolítico

VII.2.1 Efecto del efluente en el desarrollo del hongo en medio sólido

Es recomendable realizar pruebas preliminares de decoloración del efluente en medio sólido, con el organismo que se pretende usar, ya que si se presenta decoloración en dichas pruebas, se podrá concluir si puede ser usado en medio líquido (Gill *et al.*, 2002; Eichlerová *et al.,* 2005). La concentración de ácido carmínico en el efluente fue de 500 mg/L, por lo que las concentraciones correspondientes de este ácido en las cajas Petri fueron: sin efluente (0 mg/L), 5% (25 mg/L), 15% (75 mg/L), 30% (150 mg/L) y 65% (325 mg/L). El crecimiento radial del hongo obtenido para cada una de ellas fue de 87 mm, 67 mm, 36 mm, 15 mm y 14 mm respectivamente, después de 8 días de inoculado (Figura 19).

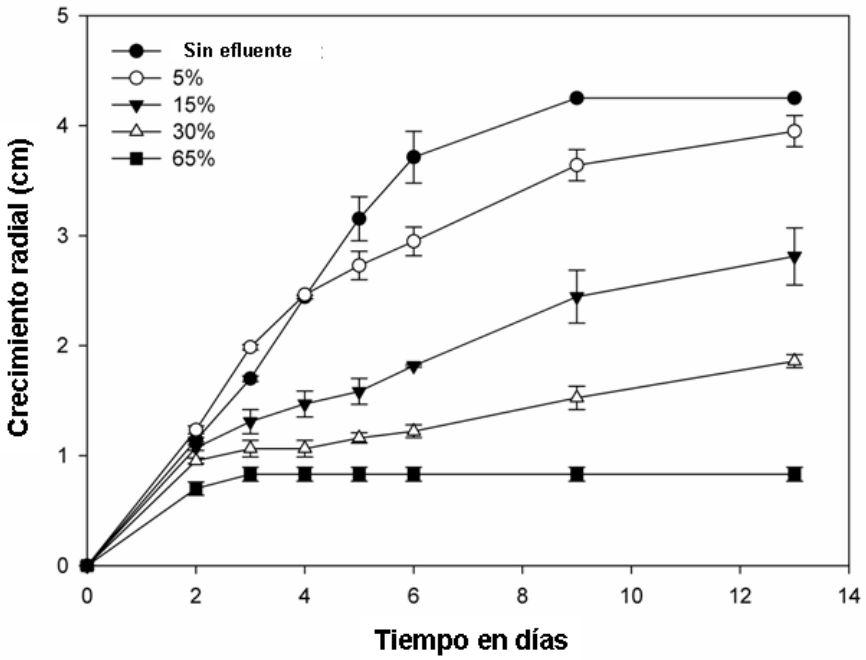

Figura 19. Crecimiento radial de *T. versicolor* CDBB-H-1051 en caja, en presencia de diferentes concentraciones de un efluente textil con grana carmín, en medio sólido. Las barras representan la desviación estándar de tres cajas.

Al analizar el desarrollo del hongo en las cajas que contenían el medio sólido, se observó que las cajas con las concentraciones más bajas del efluente de teñido, mostraron un crecimiento radial mayor del hongo, que las cajas que contenían las concentraciones más altas del efluente (Figura 19). El crecimiento del hongo no presentó diferencia significativa entre las concentraciones de efluente de 0 y 5 %

($p>0.05$; $\alpha= 0.05$) y entre las concentraciones del efluente de 15, 30 y 65 % ($p>0.05$; $\alpha= 0.05$). Sin embargo, se encontró diferencia significativa entre el grupo de concentraciones de 0 y 5 % contra el grupo de concentraciones de 15, 30 y 65 % ($p\leq0.05$; $\alpha= 0.05$). Conforme fué creciendo el hongo en el medio sólido (agar-efluente), se observó que el color fué disminuyendo, apareciendo filamentos delgados y un halo transparente. El hongo fue capaz de desarrollarse en estas condiciones y decolorar el efluente logrando inhibir el crecimiento de los microorganismos contenidos en el mismo, debido a que no se esterilizó. Existe entonces una correlación positiva entre el crecimiento radial del hongo y la decoloración del efluente. Estos resultados fueron comparables con los obtenidos con Eichlerová *et al*., (2005) para *T. versicolor* CCBAS 612. Ellos realizaron pruebas en medio sólido para la decoloración de los colorantes sintéticos Naranja G y Azul Brillante Remazol R con concentraciones de 200 mg/L. Encontraron que el crecimiento radial del hongo resultante para ambos colorantes fue de 71 a 90 mm de diámetro del micelio, después de 10 días de ser inoculado (Eichlerová *et al.,* 2005). Este diámetro del micelio es mayor que los obtenidos para la concentración equivalente de 200 mg/L de ácido carmínico (14 a 15 mm), aunque los medios fueron diferentes ya que ellos utilizaron medio Kirk N-limitado.

Otra forma de evaluar la decoloración es a simple vista, proporcionando un grado de calificación de acuerdo a la eliminación del color en las cajas (Gill *et al.*, 2002). Sin embargo, esta calificación es imprecisa porque depende del observador. Es por ello que se decidió seguir la metodología propuesta por Eichlerová *et al*., (2005), al ser más objetiva y precisa, basada en la medición del diámetro del crecimiento del micelio del hongo. Finalmente con estos resultados obtenidos en el desarrollo del hongo en medio sólido, se concluyó que el efluente que contenía ácido carmínico era factible de ser decolorado con ayuda del hongo *T. versicolor*, por lo que se procedió a llevar a cabo la decoloración en medio líquido.

VII.2.2 Efecto del efluente en el desarrollo del hongo en medio líquido

VII.2.2.1 Cultivo en medio líquido para determinar la decoloración del efluente por el hongo

En el análisis de absorbancia de los 8 tratamientos, considerando los controles C1 y C2, se obtuvieron los resultados mostrados en la Figura 20. Se observó que el valor inicial de la absorbancia fluctuaba en todas las muestras de 2.5 a 3.0, en el análisis a los 18 días, se observó que el menor valor de la absorbancia se logró en el tratamiento 7. Éste manifestó el menor color de la muestra, con la mayor perdida de color inicial (74.65%). En cuanto al valor de la absorbancia le sigue los experimentos 8 y 5, los cuales muestran una gran pérdida de color (54.57% y 53.47% respectivamente). Estos tratamientos se consideraron para realizar la cinética de decoloración y degradación.

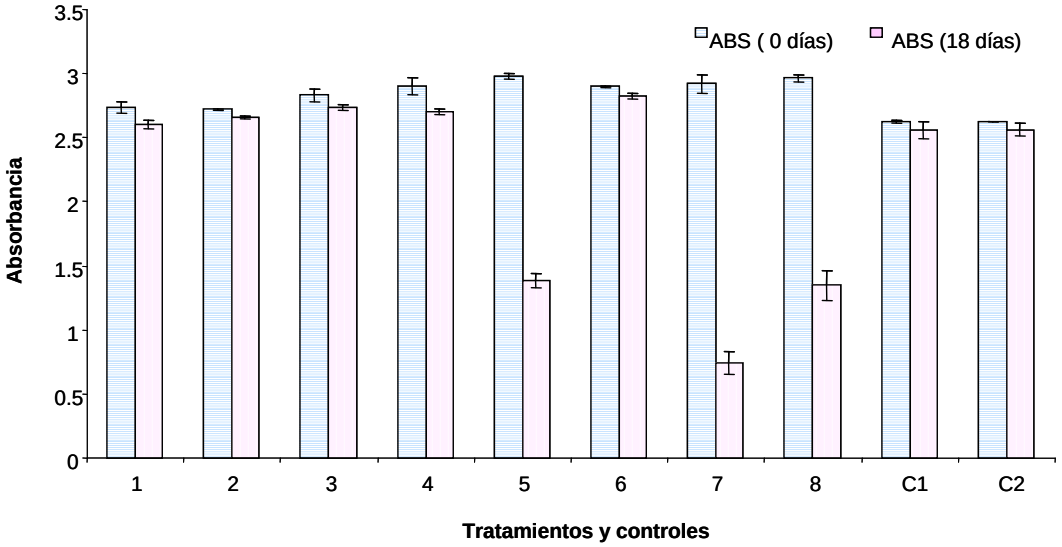

Figura 20. Resultados obtenidos para el parámetro de la absorbancia para todos los tratamientos y controles.

VII.2.3 Análisis de los parámetros de los tratamientos preparados en medio líquido para su degradación

Se hizo crecer el hongo *T. versicolor* bajo diferentes condiciones para decolorar el efluente de teñido con grana carmín. Se observó que el peso seco aumentó en función al tiempo en todos los tratamientos 5 (K+F), 7 (K+G+F) y 8 (G+F) (Figura 21). En el caso del control (K+G) no se encontró crecimiento alguno manteniéndose constante durante todo el desarrollo del experimento (Figura 21). El peso seco en los tratamientos 5 (1.738 g/L) y 7 (2.382 g/L) alcanzó un máximo en los días 1 y 4, respectivamente. Para el tratamiento 7 el valor del peso seco disminuyó (17.72 %) en el sexto día. Posteriormente disminuyó ligeramente, para mantenerse constante hasta el término del experimento (1.58 g/L), por lo que es probable que en ese punto haya alcanzando el estado estacionario. En cambio el tratamiento 8 que contenía agua y glucosa, continuó creciendo hasta el día 11 (7.51 g/L). El peso seco en el control se mantiene constante a lo largo de la prueba. El hongo creció en todos los tratamientos con el efluente, sin embargo fue mayor el crecimiento para la tratamiento 8 (W+G+F) (Figura 21).

Se observó un mayor desarrollo del hongo en el medio que contenía agua y glucosa, por lo que probablemente el nutriente fué la glucosa. Esto es similar a lo encontrado por Ramsay *et al.*, (2005), acerca de la disminución de color de varios colorantes entre ellos el colorante natural *Amaranthus caudatus* con el hongo *T. versicolor*, con la sola presencia de glucosa. Esto debido a la relación directa entre el desarrollo del hongo con la decoloración del efluente. En cuanto al comportamiento de pH en función al tiempo. Se observó que en todos los tratamientos el pH disminuyó el primer día (Figura 21). En el caso del tratamiento 8 el pH disminuyó de un pH 5.7 a un pH 4.2, manteniéndose

posteriormente constante. Para los tratamiento 5 y 7, el pH disminuyó de un pH 4.9 a un pH 4.0, a partir de lo cual fué aumentando en ambos casos hasta un pH de 7.8 a los 11 días.

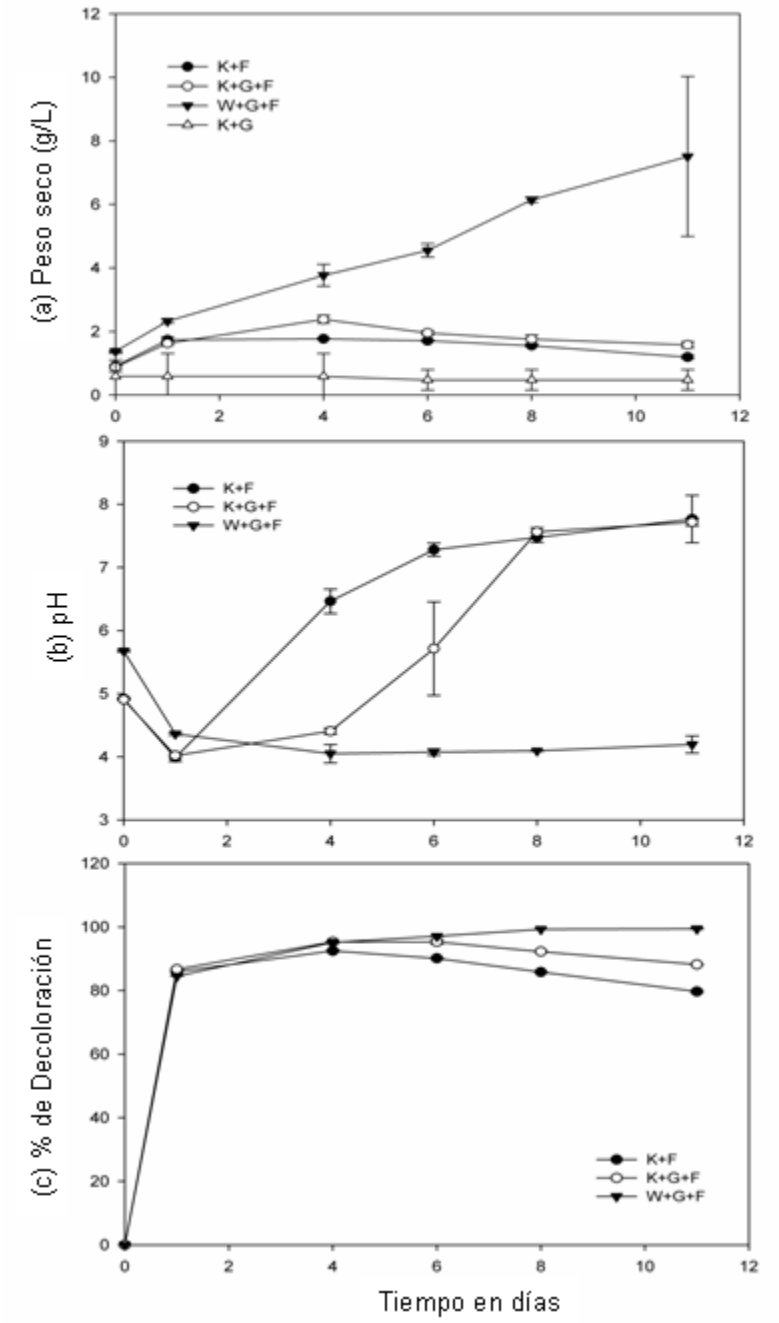

Figura 21. Variación de parámetros durante la decoloración de un efluente textil con grana con el hongo *T. versicolor*. (A) Variación del peso seco del hongo, (B) variación del pH y (C) variación del % de decoloración. Las barras de error corresponden a la desviación estándar de tres replicas. Donde K= Medio Kirk modificado (50 %), F= Hongo (5 %), G= Glucosa (5 g/L) y W= Agua (50 %).

Se comprueba que el pH óptimo para el desarrollo del hongo ligninolítico es de 4.5-5.0 (Cruz, 1996), ya que conforme baja el valor de pH en el efluente, va creciendo el hongo. Cuando el valor del pH se mantiene en el intervalo óptimo de crecimiento el hongo se sigue desarrollando. Comparando el pH inicial y final de todos los tratamientos, se obtuvó la menor diferencia de pH (1.5) en el tratamiento 8, entre el valor inicial (5.7) con respecto al valor final (4.2). Así mismo en dicho tratamiento 8 se obtuvo la mayor decoloración. De igual manera Ramsay *et al*., (2005), obtuvieron un pequeño cambio en el pH en tres diferentes medios utilizando el mismo hongo para decoloración del colorante *Amaranthus caudatus.*

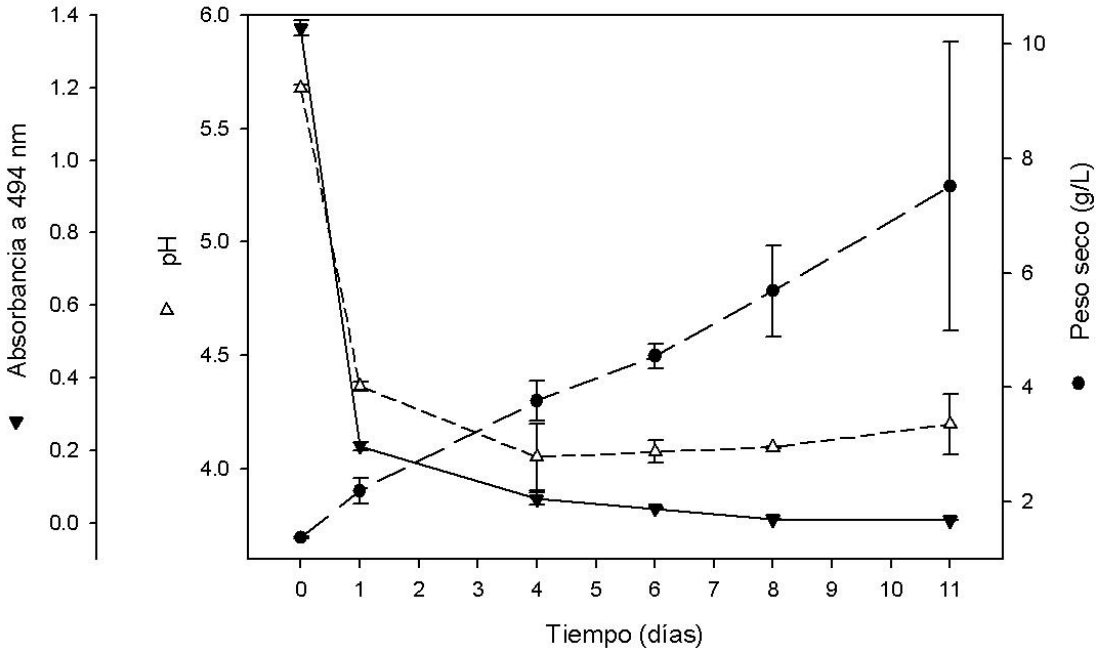

Figura 22. Relación entre el pH, peso seco y absorbancia a 494 nm, para el tratamiento 8 (W+G+F), en la decoloración de un efluente textil con grana carmín, en presencia del hongo *T. versicolor*, CDBB-H-1051. Las barras de error corresponden a la desviación estándar de tres replicas. Donde F= Hongo (5 %), G= Glucosa (5 g/L).

Por lo que la variación de pH afectó de manera directa a la decoloración del efluente (Fu y Viraraghanvan, 2001). Lo anterior porque en los tratamientos 5 (K+F) y 7 (K+G+F), se apreció una decoloración solo del 80.7 % ± 0.092 y 87.5 %± 0.17 respectivamente al final de la prueba, con un pH final de 7.8, la solución de estos tratamientos fue tomando un color amarillento, donde posiblemente los productos de metabolismo al tener medio Kirk producen un aumento del pH desfavorable al desarrollo de los hongos. El crecimiento del hongo fue mayor en el tratamiento 8 con un pH final de 4.1, observándose una decoloración mayor en el efluente (99.4 % ± 0.042), en este

caso la solución final fue completamente transparente. Todos los tratamientos presentaron una decoloración de 85.7 % ± 1.09 desde el primer día de la prueba, antes del crecimiento estacionario del hongo. Se infiere que hay una correlación directa entre el peso seco (crecimiento del hongo), el pH y la decoloración del efluente para este sistema. Esto se comprobó en el tratamiento 8 (Figura 22), se observó la misma tendencia en las curvas de pH y absorbancia. El primer día baja el valor de ambos para luego mantenerse aproximadamente constante, mientras que la curva de peso seco sigue aumentando.

En experimentos previos en el laboratorio donde se incubó un matraz con efluente sin hongo, no se encontró decoloración del efluente (Arroyo Figueroa *et al*, 2007), por lo que se comprueba la capacidad del hongo *T. versicolor* para disminuir el color del efluente del proceso de teñido, que contiene una concentración de grana carmín de 2500 mg/L equivalente a 500 mg/L de ácido carmínico. Al agregar el 50% de efluente a los tratamientos la concentración de ácido carmínico corresponde a 250 mg/L. Los resultados son comparables a los encontrados con Borchert y Libra, (2001). Ellos utilizaron el hongo *T. versicolor* (DSM 11309) con el medio Kirk, obteniendo decoloraciones de 91 % a 99 %, con concentraciones de 100 mg/L a 500 mg/L del colorante sintético rojo reactivo (RR198, con estructura de una antraquinona). Yesilada *et al.*, (2002); con el hongo *Coriolus versicolor* (ATTC 200801), obtuvieron decoloraciones de 98% del colorante rojo astrazone FBL en concentraciones de 264 mg/L, comparadas con las usadas del ácido carmínico (250 mg/L). Se obtuvo un buen porcentaje de decoloración en el efluente con el hongo *T. versicolor,* con la sola presencia de glucosa (Ramsay *et al.*, 2005).

VII.2.4 Caracterización del efluente al inicio y al final del tratamiento

Muchas de las investigaciones de decoloración y degradación de colorantes sintéticos por hongos ligninolíticos, han prescindido de la caracterización inicial y final del efluente. Siendo este un análisis importante debido a que con él se refleja con más claridad los resultados del experimento, además de que es preciso conocer la calidad del agua de descarga. Por otro lado dado que el tratamiento 8, (W+G+F); presentó la mayor decoloración, se realizo la caracterización del efluente al inicio y al final de este tratamiento. Los resultados obtenidos de los parámetros fisicoquímicos se presentan en la Tabla 12.

Se observaron las siguientes disminuciones del efluente final (t=11 días), con respecto al efluente inicial (t=0 días), para el tratamiento 8: SST, 80 %; SSV, 76.92 %; SSF, 86.96 %; CE, 39.31 %; Color (ABS), 99.40, DQO_t, 13.28 %; DQO_s, 7.34 %. Hubo una gran disminución con respecto a los sólidos, pero una muy baja disminución con lo que respecta a la DQO_t y a la DQO_s Lo que refleja que existe alta carga orgánica, posiblemente debido a la presencia del hongo ligninolítico, además de los metabolitos formados en el inicio de la degradación del extracto de la grana carmín.

El valor del pH es un parámetro importante en la biodecoloración y biodegradación de un efluente coloreado (Fu y Viraraghavan, 2001). La capacidad de decoloración del hongo *T. versicolor* depende del valor del pH (Wesenberg *et al*. 2003). El pH reportado como óptimo para la decoloración por un hongo ligninolítico es de pH 4-5 (Fu y Viraraghavan, 2001). Para el tratamiento 8, (W+G+F); los valores de pH inicial y final fueron de 5.7 y 4.2 respectivamente. Siendo estos valores cercanos al óptimo mencionado por Fu y Viraraghavan, (2001).

Tabla 12. Caracterización del efluente de teñido de algodón con el extracto grana carmín, al inicio y al final del tratamiento 8 (W+G+F) con *T. versicolor*.

Parámetros	**Límites*** **(NOM-001-ECOL-1996)**	**Inicio (t= 0 días)**	**Final (t= 11 días)**	**% E**
SST (mg/L)	40-200	750	150	80
SSV (mg/L)	-	520	120	76.92
SSF (mg/L)	-	230	30	86.96
CE (μS)	-	435±14	264±2	39.31
Color (ABS)**	-	1.39	0.01	99.40
pH	5-10	5.7	4.2	-
DQO_t (mg/L)	-	23350±397	20250±87	13.28
DQO_s (mg/L)	-	21350±737	19783±29	7.34
DBO (mg/L)	30-200			

*Limite permisible en contaminantes
**Dilución 1:2

VII.2.5 Análisis de los cromatogramas de los tratamientos

En la Figura 23, se presentan los cromatogramas al tiempo inicial (a, t=0 días) y al tiempo final (B, C, y D, t=11 días), de los tres tratamientos 5, (K+F); 7, (K+G+F) y 8, (W+G+F). Se observa que el tratamiento 8, (W+G+F); presenta un solo pico al final de la prueba, muy cercano al correspondiente al ácido carmínico (Figura 23, D). Comparado con los tratamientos 5, (K+F) y 7, (K+G+F) que presentan entre 6 y 7 picos respectivamente (Figura 23, B y C). Esto corrobora que con el tratamiento 8, (W+G+F); se obtuvieron los mejores resultados en cuanto a la decoloración y degradación.

A la longitud de onda estudiada, para este tratamiento, solo se detectan compuestos aromáticos degradados por el hongo ligninolítico, esto se refleja en las pruebas de toxicidad, al resultar el efluente tratado tóxico. Por otro lado, la presencia de la glucosa en el medio con agua permite que la degradación de ácido carmínico presente en el extracto de grana carmín por el hongo *T. versicolor*, sea mayor que al utilizar el medio Kirk. Se deduce que el medio Kirk contiene nutrientes que pueden afectar la degradación al compararlo con el tratamiento sin medio Kirk. Esto confirma el poder de degradación del hongo sin la necesidad de minerales o nutrientes adicionales a la glucosa. Se infiere que la estructura de la antraquinona proveniente del acido carmínico del colorante natural grana carmín, ha sido degradada por el hongo ligninolítico. Puesto

que no se encontró decoloración en el control sin hongo y los cromatogramas demuestran una disminución considerable de los picos correspondientes al ácido carmínico.

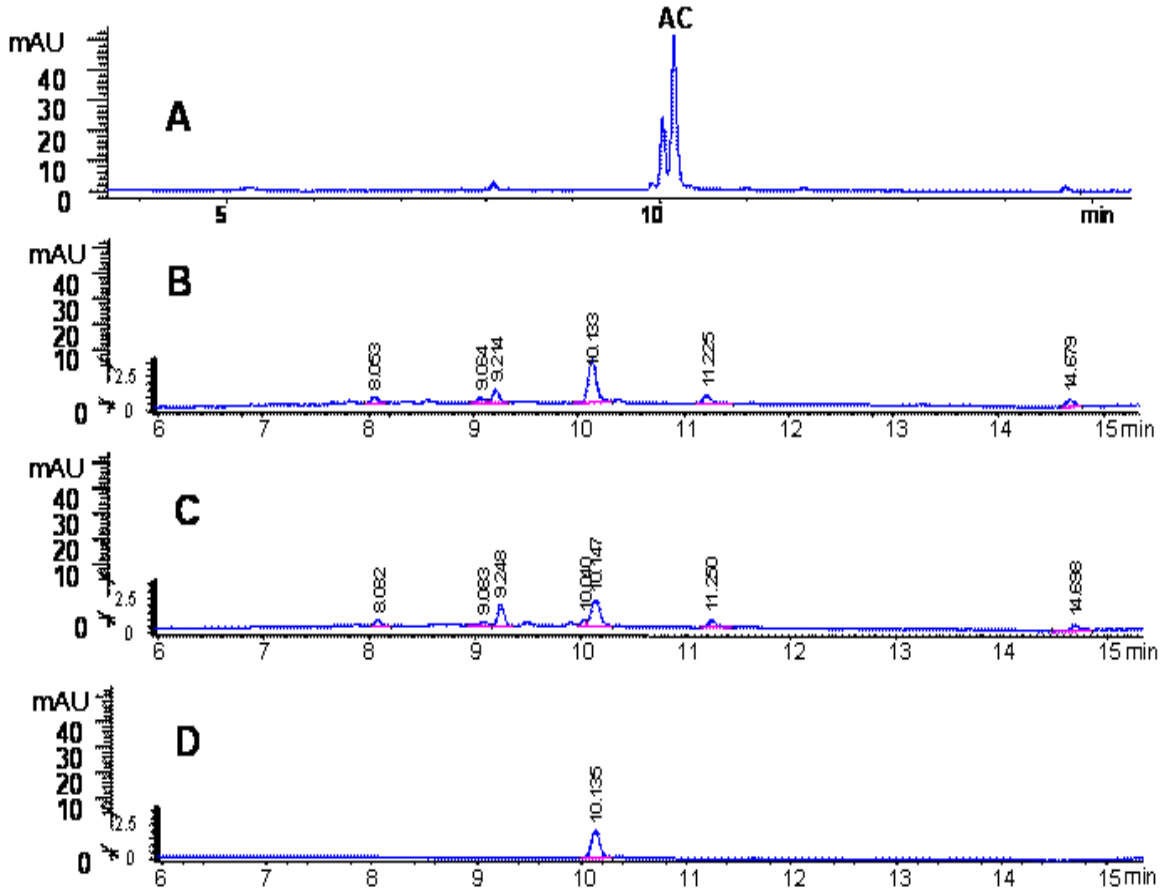

Figura 23. Cromatogramas. A) Inicial. Experimentos a t=11 dias: B) 5 (K+F), C) 7 (K+G+F) y D) 8 (W+G+F). AC= Ácido carmínico, W= Agua, G= Glucosa, F= Hongo ligninolítico.

Es probable que el sistema enzimático del hongo contribuyera a la transformación del colorante natural. Tavares *et al*., (2008) demostraron la acción enzimática en la degradación de algunos colorantes sintéticos textiles. En particular Liu *et al*., (2004), observaron la acción de tres enzimas Lac, MnP y VP, en la decoloración de colorantes sintéticos por el hongo *T. versicolor*. Como es el caso del azul brillante R Remazol (Azul reactivo 19), colorante con estructura de una antraquinona sintética. Wong y Yu, (1999) reportaron que la decoloración y degradación de un efluente con colorantes sintéticos por el hongo *T. versicolor*, depende de la estructura del colorante. En el caso de un colorante con estructura de una antraquinona, como es el caso del ácido carmínico

presente en el extracto de la grana carmín, la enzima que actúa es la lacasa (Wong y Yu, 1999; Wesenberg *et al.* 2003).

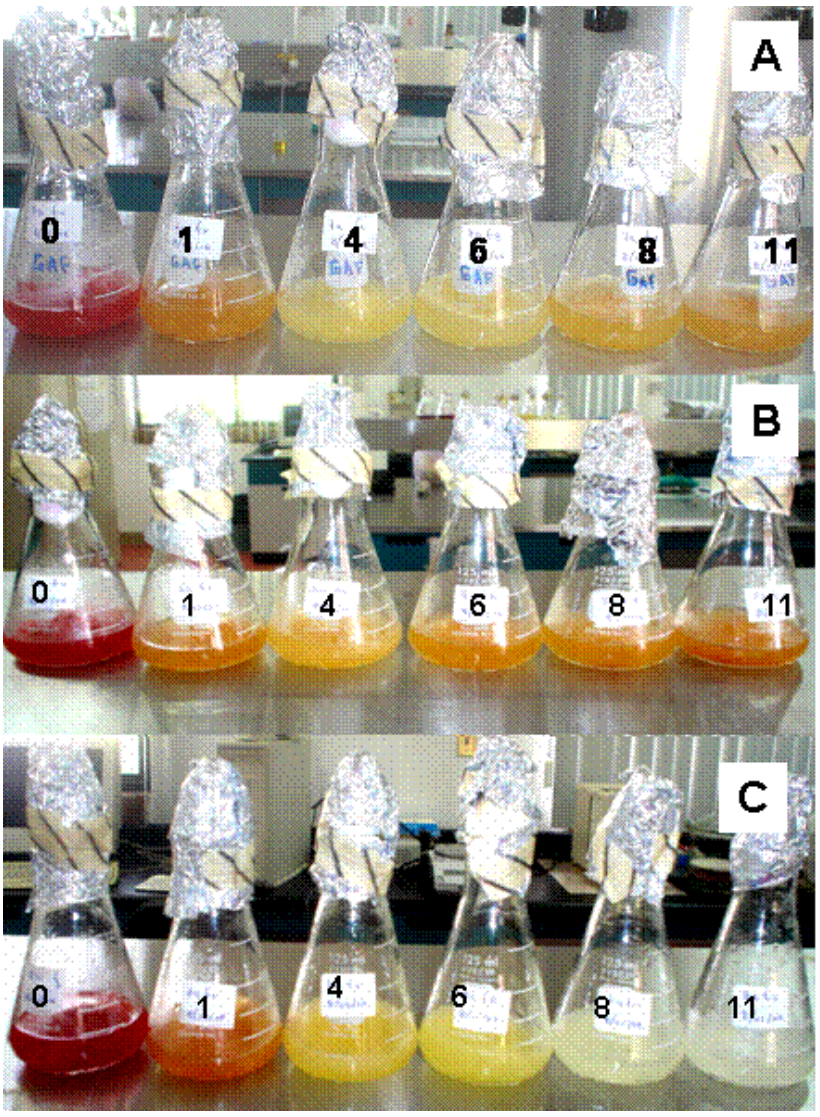

Figura 24. Cambio de color en las muestras de los experimentos: A) 5 (K+F), B) 7 (K+G+F) y C) 8 (W+G+F) en los tiempos 0, 1, 4, 6, 8, 11 días. K= Medio Kirk, W= Agua, G= Glucosa, F= Hongo ligninolítico.

Acerca de que la decoloración en el efluente es causada por la degradación del colorante, para el caso de colorantes sintéticos, conforme a lo mencionado por Wesenberg *et al*., (2002). En este trabajo también se comprueba la relación directa entre la degradación del ácido carmínico presente en el efluente y la decoloración del mismo, ya que el color del efluente disminuyó completamente en el experimento 8, obteniéndose al tiempo 11 una solución transparente (Figura 24). Por lo tanto el

experimento 8 presentó la mayor degradación del colorante ácido carmínico, siendo que en los experimentos 1 y 2 en el tiempo 11, se observan una mayor cantidad de picos en los cromatogramas respectivos (Figura 23. B y C, respectivamente), en estos mismos se obtuvo una solución amarillenta al final de la prueba (Figura 24).

En la Figura 24 se observan los colores obtenidos a lo largo de los experimentos 5 (K+H), 7 (K+G+H) y 8 (A+G+H), desde el color original rojo intenso, en el tiempo cero. Para el experimento 3 un color naranja en el día 1, un color amarillento en los días 4 y 6 y finalmente una solución ligeramente amarilla en el día 8 y completamente transparente en el día 11. Comparando lo anterior con lo derivado en el cromatograma del experimento 3 (Figura 23. D), en donde únicamente se observa un pico de menor longitud al final de la prueba. Se infiere que la estructura de la antraquinona proveniente del acido carmínico del colorante natural grana carmín, ha sido degradada por el hongo ligninolítico.

VII.2.6 Cinética de degradación del ácido carmínico por el hongo ligninolítico

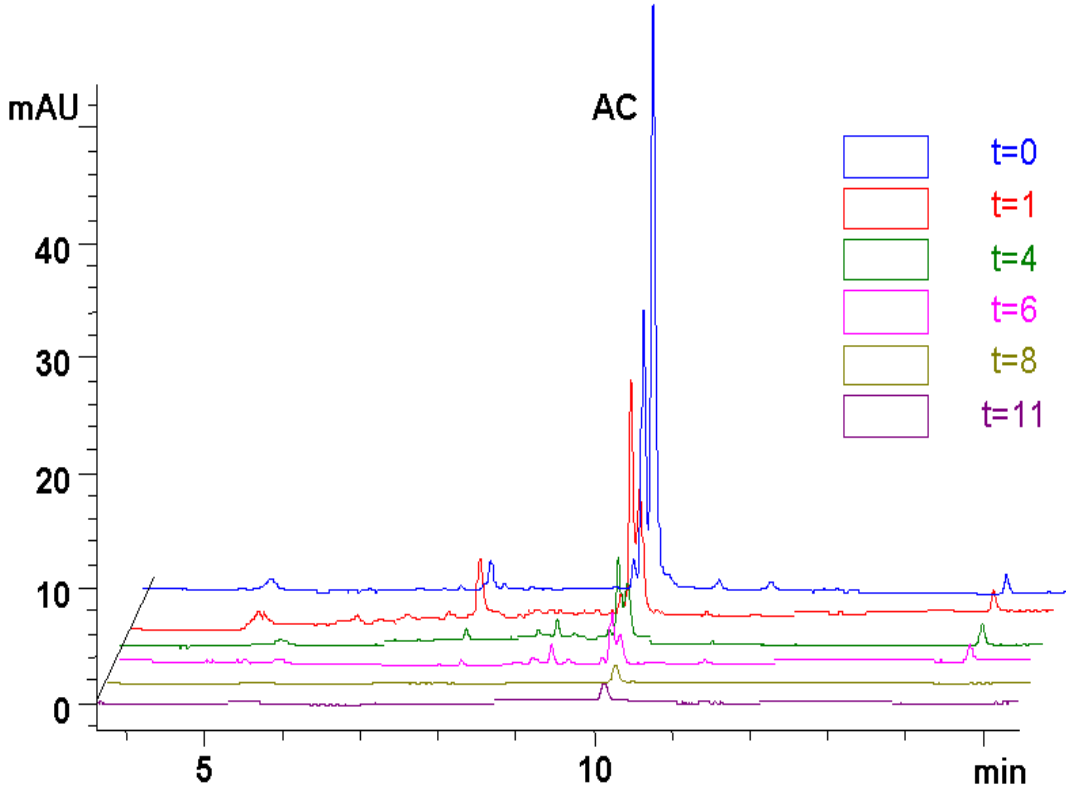

Figura 25. Cromatograma de la cinética de degradación del ácido carmínico contenido en el extracto de grana carmín en el Tratamiento 3 (W+G), con *T. versicolor* CDBB-H-1051. AC= Ácido carmínico, W= Agua, G= Glucosa.

Debido a que el tratamiento 8, (W+G+F) presentó la mayor degradación, se decidió realizar una cinética de degradación del colorante para este tratamiento. En el cromatograma, presentado en la Figura 25, se observa la desaparición gradual de algunos picos presentes en el efluente sin tratar (t=0 días).

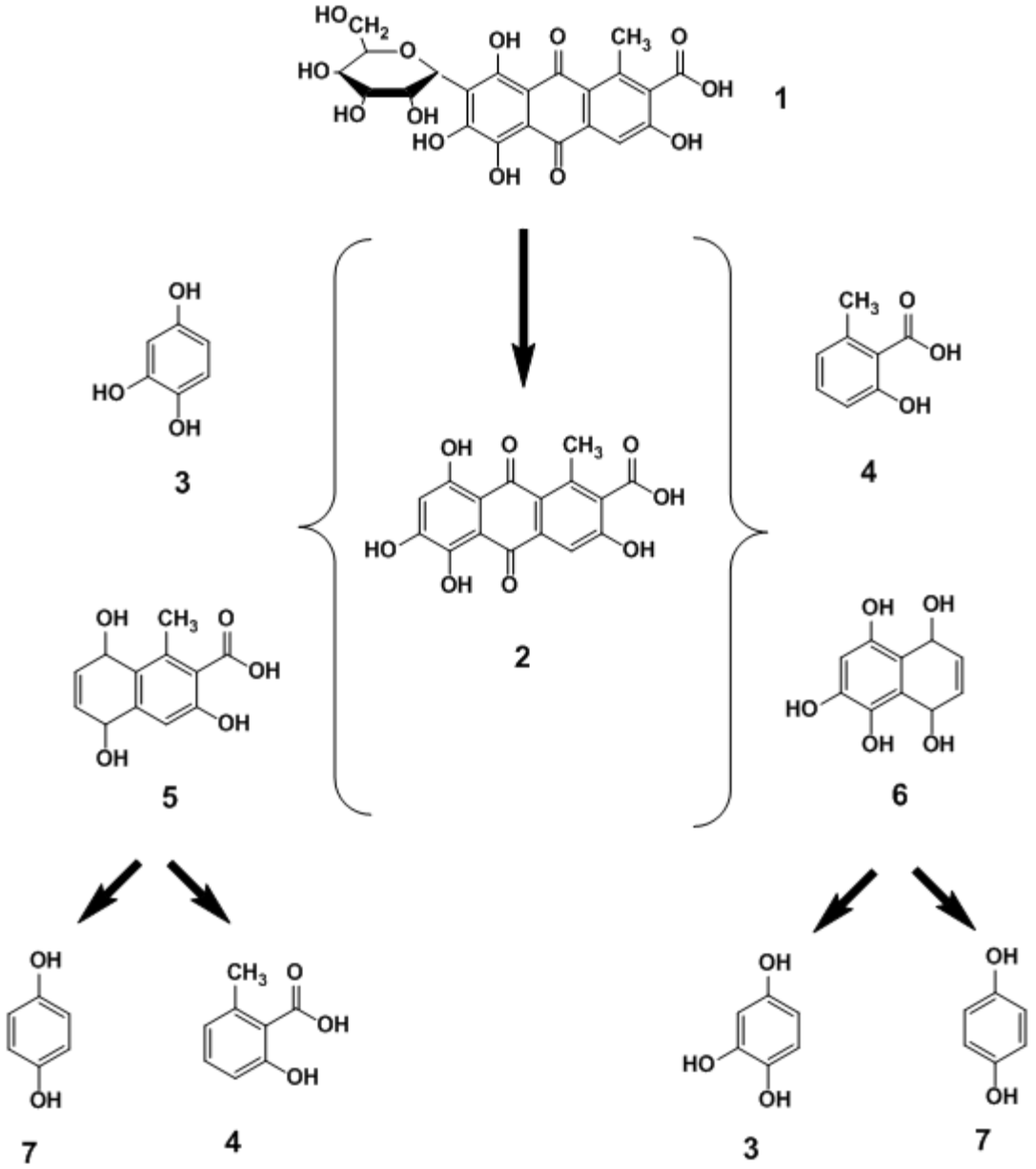

Figura 26. Propuesta de los principales metabólitos del inicio de la degradación de la estructura del ácido carmínico presente en el extracto de grana carmín en el efluente, con *T. versicolor*. Ácido carmínico (1), 1-Carboxi 2-metil 4, 6, 7, 10-tetrahidroxi antraceno-3-8-diona (2), 3-4 Di-hidroxi fenol (3), 2-Hidroxi 6-metil ácido benzoico (4), 1-Metil 3, 5, 8-trihidroxi 2 ácido naftalico (5), 1, 2, 3, 4, 5, 6-

Pentahidroxi naftaleno (6), Hidroquinona (7). (Tomando como base la propuesta de Cajthaml *et al*. 2006).

En el cromatograma inicial el pico de absorbancia correspondiente al ácido carmínico (AC, t_R= 10.2 min) va disminuyendo. Aplicando el modelo matemático de Newton (Ecuación 5), la velocidad de degradación fue de kd = 0.386 días^{-1}. A otros tiempos se forman picos, muy cercanos al del AC, esto es indicio de que el compuesto debe contener también grupos aromáticos, debido a que en UV se pueden observar compuestos conjugados preferentemente aromáticos.

Cajthaml *et al*., (2006), proponen la secuencia de los productos de degradación del benz(a)antraceno por el hongo ligninolítico *Irpex lacteaus*, con la formación de alcoholes, cetonas, ésteres y ácidos orgánicos aromáticos. Es decir los grupos aromáticos no son degradados, sino que se mantienen. Como la estructura anterior es muy parecida a la estructura de la antraquinona del ácido carmínico presente en el extracto de la grana carmín, se infiere que éste ácido es degradado en compuestos similares por el hongo *T. versicolor*, manteniendo el anillo aromático. Por lo que se propone una secuencia de degradación como se muestra en la Figura 26.

Los compuestos numerados como 2, 3, 4, 5, 6 y 7 pueden ser detectados por HPLC con arreglo de diodos y corresponden a los picos observados en los cromatogramas finales obtenidos para los tratamientos (t=11 días) (Figura 23). Aunque en el caso del tratamiento 8, (W+G+F) únicamente se detecta un solo pico en el cromatograma final (t=11 días) (Figura 23 y 25).

VII.2.7 Análisis de toxicidad del efluente

La concentración de la muestra del mejor tratamiento (W+G+F), que inhibe la producción de la luz de la bacteria por 50%, CE_{50} (Gavril y Hodson, 2007), fue de 13.65%. Esto es considerado de alta toxicidad (CE_{50}<25%) (Saldaña *et al*., 2008; García *et al*., 1994). Por otro lado en las unidades de toxicidad, 100/$CE_{50,}$ UT (Gavril y Hodson, 2007), se obtuvo un valor de 7.325 UT, estipulado también como muy tóxico (UT >4) (García *et al*., 1994; Saldaña *et al*., 2008). Gavril y Hodson, (2007), obtuvieron la disminución de toxicidad en la decoloración de un efluente que contenía el colorante sintético mono-azo, amaranth. En un período de 30 días de un rango de 60 - 70 UT, disminuyó a un rango de 20 - 30 UT. Con la misma prueba al ajustar el pH de 6 a 8, obtuvieron una toxicidad en un rango de 10 - 15 UT. Se ha reportado que el hongo *T. versicolor*, podría ser usado en la disminución de la toxicidad en efluentes que contienen colorantes de tipo mono-azo (Gavril y Hodson, 2007). Aplicando el bio-ensayo al ácido carmínico proveniente del extracto de la grana carmín en el efluente de teñido, se obtuvo un valor alto de toxicidad (7.32 UT) en la muestra tratada después de 11 días, siendo este valor menor al obtenido por Gavril y Hodson, (2007). Por otro lado Gavril y Hodson, (2007), mencionan que la toxicidad de una muestra es debida al valor del pH (determinado por la forma química del soluto) y a la toxicidad inherente de los

componentes químicos. Por lo que recomiendan ajustar el pH de las muestras entre 6 y 8 (Gavril y Hodson, 2007). Para el caso del efluente de teñido con el extracto de grana carmín el pH final no fue ajustado (3.62), por lo que se infiere que la alta toxicidad tiene que ver con el resultado del pH final, aunado a los nuevas estructuras de los compuestos formados con la degradación de este efluente (Gavril y Hodson, 2007).

VIII. CONCLUSIONES

En este trabajo se cumple un avance de la aplicación en el teñido de algodón con el colorante natural del extracto de la grana carmín. Se acepta la hipótesis de que el proceso de teñido obtenido permite una mejor homogeneidad del colorante en el algodón. Asimismo se encontró que entre mayor cantidad de iones hidrógenos estén presentes en la etapa de mordentado, mayor será el tono rojo conferido a la tela. Además de que al disminuir el carbonato de sodio, aumenta el tono rojo en la tela. Esto debido a que el carbonato de sodio otorga un tono morado, por la acción de los aniones de los álcalis sobre los iones hidroxilo de la estructura del colorante. Mientras que los otros mordientes tales como el ácido tánico y el alumbre favorecen la coloración roja y su fijación.

Para las pruebas de solidez se determinó que las que más afectan al color en la tela teñida, es la solidez a temperaturas altas y al lavado doméstico. Por lo que se recomienda realizar el lavado de la tela de algodón teñida con el extracto de grana carmín, a una temperatura ambiente o fría y de preferencia con jabones líquidos suaves, sin ningún tipo de blanqueador sea químico u óptico. Las pruebas de solidez que menos afectan el color en la tela teñida son la solidez: a la luz artificial, al frote en seco y a ácidos y álcalis, en ese orden.

En la comparación de la estabilidad de color en una tela de algodón teñida con colorantes sintéticos, contra la tela de algodón teñida con el extracto de grana carmín, es preciso adaptar el proceso usado para el teñido de algodón con grana carmín, al equipo de la industria moderna y seleccionar los materiales óptimos del proceso (mordientes), que permitan obtener una buena estabilidad en el color a nivel industrial.

En cuanto al tratamiento biológico del efluente, este trabajo es el primero reportado acerca del tratamiento de un efluente proveniente de un proceso de teñido con extracto de grana carmín por el hongo *T. versicolor* CDBB-H-1051. Con la decoloración en medio sólido se comprobó de manera preliminar que el efluente podía ser degradado por el hongo *T. versicolor* CDBB-H-1051. Además se encontró que existe una relación directa entre el crecimiento del hongo y la decoloración del efluente en medio sólido. En las pruebas de decoloración en medio líquido se observo que el hongo *T. versicolor*, elimina el color del efluente de teñido con extracto de grana carmín que contiene ácido carmínico. Esto aunque el efluente no fue esterilizado, logrando inhibir el crecimiento de microorganismos en el sistema. Por otro lado se encontró que existe una relación directa entre el peso seco del hongo, el pH y la decoloración del sistema. El hongo presentó mayor desarrollo y mayor decoloración en el sistema sin medio Kirk y con glucosa, lo que quiere decir que el hongo decoloró el efluente con la sola presencia de glucosa.

Se comprobó que el ácido carmínico presente en el efluente con extracto de la grana carmín es degradado por *T. versicolor*, con lo que se producen metabolitos conteniendo aún estructuras aromáticas, a partir de la información generada por los cromatogramas.

El hongo *T. versicolor*, se sugiere pueda ser usado en la decoloración y degradación de efluentes que contengan estructuras similares a la de las antraquinonas naturales. Aceptando así la hipótesis de que es factible de degradar por medios biológicos (hongo ligninolítico), los contaminantes presentes (ácido carmínico), en el efluente del teñido con grana carmín.

La toxicidad del efluente tratado fue atribuida a un bajo valor del pH y a la presencia de la estructura de compuestos aromáticos y grupos carboxilo e hidroxilo. Por los resultados logrados es factible que si se mantiene constante el pH durante el proceso a un valor favorable para el desarrollo del hongo *T. versicolor*, la decoloración y degradación puedan incrementarse. Esto debido a que el tratamiento con el que se obtuvo una mayor decoloración y degradación, mantuvo un pH bajo.

La metodología propuesta en esta tesis permite proponer estrategias para la reducción de la contaminación de agua al desarrollar procesos sustentables aplicados a la industria textil y que son amigables con el medio ambiente.

IX. BIBLIOGRAFÍA

AATCC. 2003. American Association of Textile Chemists and Colorists. Technical Manual, 2003. Pp. 132-2004.

AITEX (Centro de Información de sustancias y preparados peligrosos en textiles). 2006. www-textil.org/extranet/inf./Revista/colorants/pdf. 15/12/06.

Alexopoulos, C.J, Mims C. W., Blacwel M. 1996. Introductory mycology. Fourth edition. John Wiley ans Sons, Inc. USA.

Allam O. G., El-Sayed H., Kantouch A. y Haggag K. 2009. Use of sericin in feltproofing of wool. Journal of Natural Fibres. 6:14-26.

Arora D. S., Chander M. 2005. Decolourisation of diverse industrial dyes by some *Phlebia spp*. and their comparison with *Phanerochaete chrysosporium*. Journal of Basic Microbiology. 44, (5) 331-338.

Arroyo-Figueroa G., Ruiz-Aguilar GML. Gonzáles-Sánchez G. and Cuevas-Rodríguez G. 2008. Colour fastness in cotton fabric dyed with cochineal. Memorias del International Meetings ASA-CSSA-SSSA (American Society of Agronomy. Crop Science Society of America. Soil Science Society) October 5-9. Houston, USA.

Arroyo-Figueroa G., Ruiz-Aguilar G. M. L., Cuevas-Rodríguez G., Herrera-Méndez C. H., 2007. Degradation studies of cochineal extract to promote natural colorants use in textile industry. ASA-CSSA-SSSA (American Society of Agronomy. Crop Science Society of America. Soil Science Society) International Meetings (November 4-8, 2007) New Orleans. E.U.

Arroyo-Ortiz L. 2008. Tintes naturales Mexicanos su aplicación en algodón, henequén y lana. CONABIO y ENAP. Pp. 181.

Arslan, I., Balcioglu, I: A. 2000. Effect of common reactive dye auxiliaries on the ozonation of dyehouse effluents containing vinyl sulphone and aminochloro triazine dyes. Desalination. 130:61-71.

Ashoka C., Geetha, M. S., Sullia, S. B. 2002. Biobleaching of composite textile dye effluent using bacterial consortia. Asian J. Microb. Biotech. Env. Sci. 4:65-68.

Auriol M., Filali-Meknassi Y., Tyagi R. D., Adams C. D. 2007. Laccase – catalyzed conversion of natural and synthetic hormones from a municipal wastewater. Water Research. ScienceDirect. Elvesier. 41: 3281-3288.

Banat I. M., Nigam P., Singh D., Marchant R. 1996. Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: a review, Bioresource Technology 58, 217-227.

Barr, D. P., Aust, S. D., 1994. Mechanisms white rot fungi use to degrade pollutants. Environ. Sci. Technol. 28(A): 79-87.

Bechtold T., Mahmud-Ali A., Mussak R. 2007. Natural dyes for textile dyeing: A Comparison of methods to asses the quality of Canadian golden rod plant material. Elsevier. Dyes and Pigments XX: 1-7.

Borchert M., Libra J. A. 2001. Decolorization of reactive dyes by the white rot fungus *Trametes versicolor* in sequencing batch reactors. InterScience Biotechnology and Bioengineerin, 75 (3) 313-321.

Burkinshaw S. M., Kurmar N. 2009. The mordant dyeing of wool using tannic acid and $FeSO_4$, Part1: Initial findings. Dyes and Pigments 80: 53-60.

Cajthaml T., Erbanová P., Sasek V., Moeder M. 2006. Breakdown products on metabolic pathway of degradation of benz[a]anthracene by ligninolytic fungus. Chemosphere 64: 560-564.

CANAINTEX. 2002. Cámara Nacional de la Industria Textil en México. Memoria estadística. México D. F. Industria textil el hilo del futuro, mundo ejecutivo no. 284, p. 103. Año XXIV.

Casieri L., Varese G. C., Anastasi A., Prigione V., Svobodova K. 2008. Decolorization and Detoxication of reactive industrila dyes by immopbilized fungi *Trametes pubescens* and *Pleurotas ostreatus*. Folia Microbiol. 53(1), 44-52.

Chander M., Arora D. S. and Bath H. K. 2004. Biodecolourisation of some industrial dyes by white-rot. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 31(2) 94-97.

CNVI-INNTEX. 2007. Cámara Nacional de la Industria del Vestido. Instituto Nacional de Normalización Textil. http://cniv.org.mx/inntex/normalizacion.htm#etiqueta. 23/01/07.

Cosmen, P. 1996. Tratamiento de efluentes industriales. Primera parte. Residuos. 31

Coulibaly L., Gourene G. y Agathos N.S. 2003. Utilization of fungi for biotreatment of raw wastewaters, African J. Biotechnol. 2, 620-630.

Cristea D., Vilarem G. 2006. Inproving light fastness of natural dyes on cotton yarn. Elsevier. Dyes and Pigmentes 70. 238-245.

Cruz, T., 1996. Estudio de la actividad ligninolítica producida por hongos de la pudrición blanca en fermentación en estado sólido. Documento Predoctoral. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN. México.

Dahlgren B. 1990. La grana cochinilla. Editado por Instituto de Investigaciones Antropológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México. Pp. 341.

Del Río-y Dueñas I. 2006. Grana cochinilla fina, regalo de México para el mundo. Instituto Estatal de Ecología de Oaxaca. Oaxaca, México, Pp. 11-53.

Eichlerová I., Homolka L., Lisá L., Nerud F. 2005. Orange G and Remazol Brilliant Blue R decolorization by white rot fungi *Dichomitus squales, Ischnoderma risinosum* and *pleurotus calyptratus*. Chemosphere 60: 398-404.

Eom S., Shin D. y Yoon K. 2001. Improving the dyeability of natural colorants on cotton by cationization. Indian Journal of Fibre & Textile Research 26, 425-431.

Escamilla S. E. 2007. Nuevas tecnologías para el tratamiento de aguas potables y residuales. Dentro del Simposio Internacional México-Canadá sobre tecnologías avanzadas para el tratamiento de agua potable y aguas residuales. Instituto Tecnológico de Celaya. 29 y 30 de marzo del 2007.

Esparza-Lara S. 1999. Teoría de los hilados. Ed. Limusa. Pp. 122.

Fu Y., Viraraghavan T. 2001. Fungal decolorization of dye wastewaters: a review, Bioresource Technology 79, 251-262.

Ganesh, R., Boardman, G.D. and Michelsen, D. 1994. Fate of azo dyes in sludges. Water Research. 28:1367-1376.

García A. E., Monteiro B. C. V., Monteiro de B. de F. R. 1994. Manual de evaluación y manejo de sustâncias tóxicas em aguas superficiales**.** Estudio de caso Rio Paraiba do Sul, Brasil. Lima Peru.

Gavril M., Hodson P. 2007. Investigation of the toxicity of the products of decoloration of amaranth by *Trametes versicolor*. Journal of environmental quality 36, 1591-1598.

Gibaja S. 1998. Pigmentos Naturales Quinónicos. Centro de producción Editorial. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Pp. 14-188.

Gill P. K., Arora D. S., Chander M. 2002. Biodecolourization of azo and triphenylmethane dyes by *Dichomitus squalens* and *Phlebia spp*. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 28 (4) 201-203.

Gutiérrez E., Díaz S. L. 2002. Manual de tintes de origen natural para papel con fibra de pinzote de banana. Proyecto de graduación. Escuela de agricultura de la región tropical húmeda. Guácimo, Costa Rica. Diciembre. Pp 116.

Health N. J. (Departamento de salud y servicios para personas mayores de New Jersey, Hoja informativa sobre sustancias peligrosas). 2006. www.nj.gov/health/eoh/rtkweb/01405p.pdf. 15/12/06.

Heinfling A., Bergbauer M., Szewzyk U. 1997. Biodegradation of azo and phthalocyanine dyes by *Trametes versicolor*_and *Bjerkandera adusta*. Appl Microbiol Biotechnol 48:261-266.

Hollen N., Saddler J. y Langford A. L. 2005. Introducción a los textiles. Editorial Limusa. Noriega Editores, 45-51 p.

Hurtado J., Arroyo G., Ruiz G. M. L. 2008. Solidez del colorante natural grana carmín sobre la tela de algodón. Memorias en extenso se la XX Jornada de Ingeniería Bioquímica. Instituto Tecnológico de Celaya. Celaya, Gto. México.

ISO. 2007. International Organization for Standardization. Textiles -- Tests for colour fastness. http://www.iso.ch/iso/home.htm. 17/10/07.

Kamel M. M., El-Shishhtawy R. M., Youssef B. M:, Mashaly H. 2005. Uktrasonic assisted dyeing. IV. Dyeing of cationised cotton with lac natural dye. Dyes and Pigments. Science Direct. 73: 279-284.

Kim, T.K., Park, C., Lee, J., Shin, E.B., Kim, S. 2002. Pilot scale treatment of textile wastewater by combined process (fluidized biofilm process-chemical coagulation-electrochemical oxidation). Water Research. 36:3979-3988.

Knapp J.S., Newby P. S. y Reece L. P. 1995. Decolorization of dyes by wood-rotting basidiomycete fungi, Enz. Microbiol. Tech. 17, 664-668.

Konica Minolta, 1998. Precise color communication. Color control from perception to instrumentation. Japan.Pp.53.

Leidig, E., Prüsse, U., Vorlop, K. D., Winter, J. 1999. Biotransformation of poly R-478 by continuous cultures of PVAL-encapsulated *Trametes versicolor* under non-sterile conditions. Bioprocess Eng. 21, 5-12.

Lesso Aguilar M. 2009. Proceso de teñido en la tela de algodón con grana carmín y solidez del color. Tesis de Licenciatura de Ingeniería Agroindustrial. Universidad de Guanajuato.

Lesso Aguilar M., Arroyo Figueroa G. 2006. *Teñido de algodón con grana carmín.* Memorias del XII Verano de la investigación científica, Dirección de Investigación y Posgrado, Universidad de Guanajuato.

Liu W., Chao Y., Yang X., Bao H., Qian S. 2004. Biodecolorization of azo, anthraquinonic and triphenylmethane dyes by white-rot fungi and a laccase-secreting engineered strain. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 31 (3)127-132.

Llanderal C., Zetina D. H., Vigueras A. L., Portillo L. 2008. Grana cochinilla y colorantes naturales. Colegio de Posgraduados. Pp. 124.

Maier R. M., Pepper I. L., Gerba C. P. 2000. Environmental microbiology. Editorial Academic Press, Florida, USA. 505-514 p.

Maldonado, F. 2005. Universidad Nacional de Quilmes, Argentina. Optimización del proceso de teñido en las telas.

Marmion M. 1985. Handbook of U.S. colorants for foods, drugs, and cosmetic. Wiley interscience publication. Pp. 443.

McMullan G., Meehan C., Conneely A., Kirby N., Robinson T., Nigam P., Bnat I. M., Marchant R., Smyth W. E. 2001. Microbial Decolourization and degradation of textiles dyes. Appli. Microbiol. 33, 21-25.

Michael M. N., Tera F. M., Aboelanwar S. A. 2003. Colour measurements and colourant estimation of natural red dyes on natural fabrics using diferentes mordants. Focus on natural dyes. Colourage. Colour Publications (P) Ltd, Pp. 31-42.

Mohorcic M., Teodorovic S., Golob V., Friedrich J. 2006. Fungal and enzymatic decolourisation of artificial testile dye baths. Chemosphere 63: 1709-1717.

Morgan P, Lewis S. T., Watkinson R. J. 1991. Comparison of abilities of white-rot fungi to mineralize selected xenobiotic compounds. Appl Microbiol Biotecnol 34:693-696.

Moyssén Chávez M. 2006. Aproximaciones al uso del color en el diseño industrial. Centro de investigaciones de diseño industrial. UNAM, Mexico. Pp. 97.

Nagia F. A., EL-Mohamedy R. S. R. 2007. Dyeing of wool with natural anthraquinone dyes from *Fusarium oxysporum*. Dyes and pigmentes; 75:550-555.

Needham W. 2005. Cola de Turquía, http://mwrop.org/W_Needham/Turkey_Tail_040229.htm. 25/05/05.

NMX-AA-112-SCF1-1995. Norma mexicana. Análisis de agua y sedimentos – evaluación de toxicidad aguda con *photobacterium phosphoreum* – método de prueba. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.

Ollikka P., Alhonmaki K., Leppanen V. M., Glumoff T., Raijola T., Suominen I., 1993. Decolourization of azo, triphenylmethane, heterocyclic and polimeric dyes by lignin peroxidase isoenzymes from *Phanerochaete chrysosporium*. Appl Environ Microbiol. 59:4010-4016.

Paga, U., Taeger, K. 1994. Development of a meted for adsorption of dyestuff on activated sludge. Water Research 28:1051-1057.

Paszczynski A., Crawford R. L. 1991. Degradation of azo compounds by ligninase from *phanerochaete chrysosporium*: involvement of veratryl alcohol. Biochem. Biophys. Res. Comm.178, 1056-1063.

Pérez Sandi Cuen M. 2001. Referencias históricas del uso de la grana cochinilla. En Cría de la grana cochinilla del nopal para la producción de su pigmento. Llanderal C, R Nieto, Editores, Instituto de Fitosanidad, Colegio de Posgraduados, Chapingo, Estado de México, México. Pp. 93-03.

Pelczar M., Roger D., Chan E. C. S. 1982. Microbiología. Editorial McGraw-Hill. México. Pp. 803.

Pinheiro H.M., Touraud E., Thomas O. 2004. Aromatic amines from azo dye reduction: status review with emphasis on direct UV spectrophotometric detection in textile industry wastewaters, Dyes and Pigments, 61, 121-139.

Piña L. 1977. La grana cochinilla del nopal, Publicación de los laboratorios nacionales de fomento industrial, México, D.F. 13 (2): 61-67.

Polar empresas 2009. http://www.fundacionempresaspolar.org/quimica/fasciculo27.pdf. 22/03/10.

Quintero C. J., Feijoo G., Lema M. J. 2006. Producción de enzimas ligninolíticas com hongos basidiomicetos cultivados sobre materiales lignocelulósicos. Revista de la Facultad de Química Farmacéutica

Ramsay J. A., Mok W. H. W., Luu Y. S., Savage M. 2005. Decoloration of textile dyes by alginate-inmobilized *Trametes versicolor*. Chemosphere 61: 956-964.

Rico Jordan E. 2006. Biorestauración de un suelo contaminado con productos agroquímicos adicionando *Trametes versicolor* CDBB-H-1051 crecido sobre residuos lignocelulósicos. Tesis de Licenciatura de Ingeniería Agroindustrial. Universidad de Guanajuato.

Rodríguez S., Fernández M., Bermúdez R. C., Morris H. 2003. Tratamiento de efluentes industriales coloreados con *Pleurotas spp.* Rev. Iberoam Micol; 10, 164-168.

Sahagún B. 1829. Historia General de la de las cosas de la Nueva España. Edición digital a partir de la edición de Juan Carlos Temprano, Madrid, Historia 16, 1990.

Salas, G. 2005. Tratamiento fisicoquímico de aguas residuales de la industria textil Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Saldaña P., Lerdo de Tejada A., Gómez M. A., López R. 2002. Importancia de incluir análisis de toxicidad en descargas industriales y municipales que afectan a los cuerpos receptores. Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente; AIDIS. Memorias. México, D.F., FEMISCA, p.1-11.

Sam M., Yesilada O. 2001. Decolorization of orange II dye by white-rot fungi. Folia microbial (Praha). 46 (2) 143-5.

Saparrat M. C. N., Guillen F. 2005. Ligninolytic ability and potential biotechnology application of the south American fungus *Pleurotus laciniatocrenatus*. Folia Microbiol. 50, 155-160.

Sarkar A. K. 2004. An evaluation of UV protection imparted by cotton fabrics dyed with natural colorants. B. M. C. Dermatology; 4:15.

Sarkar A. K., Seal C. M. 2003. Color Fastness and colorfastness of flax fabrics dyed with natural colorants. Clothing and Textiles Journal; 21(4), 162-166.

Selvam K., Swaminathan K., Chae K.-S. 2002. Decolourization of azo dyes and a dye industry effluent by a white rot fungus *Thelephora sp*., Bioresource Technology 88, 115-119.

SEMARNAT, 2010. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Narurales. Instituto Nacional de Ecologia. http://www2.ine.gob.mx/publicaciones/gacetas/215/cca14.html. 22/03/10.

Shanker R., Vankar P. S. 2007. Dyeing cotton, wool and silk with *Hibiscus mutabilis* (Gulzaba). Dyes and Pigments; 74: 464-469.

Shaul, G.M., Dempsey, C.R., Dostal, K.A and Lieberman, R.J. 1985. Fate of azo dyes in the activated sludge process. Proceedings 41 St. Purdue University Industrial Waste Conference, 603-611.

Somasiri W., Ruan W-Q., Li X-F., Jian, Ch. 2006. Decolourization of textile wastewater containing acid dyes in UASB reactor system under mixed anaerobic granular sludge. Electron. J. Environ. Agric. Food Chem. 5 (1). 1224-1234.

Standard methods for the examination of water and waste water. 1985. APHA-AWWA-WPCF. Ed. Diaz de Santos. Pp.1-200.

Takahashi M. 2003. Textiles Mexicanos, arte y estilo. Editorial Noriega. Pp. 37-38.

Taranto E. y Mari J. 2003. Textiles argentinos. Editorial Maizail Ediciones, Buenos Aires, Argentina. 29-43 p.

Tavares A., Cristovao R., Loureiro J., Boaventura R., Macedo E. 2008. Optimisation of reactive textile dyes degradation by laccase-mediator system. J. Chem. Technol. Biotechnol. 83: 1609-1615.

Tlapanochestli, A.C. 2006. Recetas para teñir fibras naturales con grana del carmín o cochinilla fina desde 1778 hasta nuestros días. En Colección: Colorantes naturales Tomo II: Teñido en fibras naturales, Oaxaca, México. 1-11 p.

Tsatsaroni E. y Liakopoulou-Kyriakides M. 1995. Effect of enzymatic treatment on the dyeing of cotton and wool fibres with matural dyes. Dyes and Pigments; 29 (3): 203-209.

Vandevire P. C., Bianchi R., Verstraete W. 1998. Treatement and reuse of wastewater from textile wet-processing industry. Review of emerging technologies. J. Chem. Tecchonol. Biotechnol. 72, 289-302.

Van de Vrande L. 1988. Teñido Artesanal. Edición CEAC, S. A. Barcelona España. Pp. 132.

Vankar P. S., Shander R., Mahanta D., Tiwari S.C. 2006. Ecofriendly sonicator dyeing of cotton with Rubia cordifolia Linn. Using biomordant. Dyes and Pigments; 76: 207-212.

Vigueras A. L., Portillo L. 2001. Usos del pigmento de la grana cochinilla. En Cría de la grana cochinilla del nopal para la producción de su pigmento. Llanderal C, R Nieto, Editores, Instituto de Fitosanidad, Colegio de Posgraduados, Chapingo, Estado de México, México. Pp. 93-03.

Vigueras A. L., Portillo L. 2004. Manual de teñido de fibras naturales con pigmentos. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Laboratorio de Biotecnología. Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jal., México. Pp. 25-32.

Wesenberg D., Buchon F., Agathos S. N. 2002. Degradation of dye-containing textile effluent by the agaric white-rot fungus *Clitocybula dusenii*. Biotechnology letters 24. 989-993.

Wesenberg D., Kyriakides I., Agathos S. N. 2003. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents, Biotechnology Advances 22, 161-187.

Wong Y. X., Yu J. 1999. Laccasa catalyzed decolorization of synthetic dyes. Wat. Res. 33:3512-3520.

Xavier A., Tavares A. P., Agapito M. 2008. Sequential batch reactor for eucalypt kraft pulp effluent treatment with *Trametes versicolor*. J. Che. Technol. Biotechnol. 83: 1602-1608.

Yesilada O., Asma D., Cing S. 2002. Decolorization of textile dyes by fungal pellets, Process Biochemistry 38, 993-938.

Young L., Yu J. 1997. Ligninase-catalysed decolorization of synthetic dyes. Wat. Res. 31:1187-1193.

Zhao L. H., Zhou J. T., Lv H., Zheng C. L., Yang Y. S., Sun H. J., Zhang X. H. 2008. Decolorization of cotton pulp black liquor by *Pleurotus ostreatus* in bubble-column reactor. Bull Environ Contam Toxicol. 80: 44-48.

Zilly A., Souza C. G. M., Barbosa-Tessmann I. P., Peralta R. M. 2002. Decolorization of industrial dyes by a Brazilian isolate of *Pleurotus pulmonarius* producing laccase as the sole phenol-oxidizing enzyme, Folia Microbiol. 47, 273-277.

X. ANEXOS

X.1 Productos obtenidos durante el periodo de doctorado

X.1.1 Trabajos publicados

X.1.1.1 Memorias en extenso

Arroyo Figueroa Gabriela. (2006). Ponencia "*Análisis de la estabilidad del proceso base de teñido de algodón con grana carmín*". Memorias del III Congreso Internacional de grana cochinilla y colorantes naturales. 13 al 17 de Noviembre 2006, Morelia Michoacán. México.

Arroyo Figueroa Gabriela., Ruiz Aguilar Graciela M. L., González Sánchez Guillermo. (2007). Cartel "*Pruebas de decoloración del efluente del proceso de teñido de algodón con ácido carmínico, por un hongo ligninolítico*". Memorias del VI Congreso Internacional XII Congreso Nacional de Ciencias Ambientales. 6, 7 y 8 de junio del 2007, Universidad Autónoma de Chihuahua y Academia Nacional de Ciencias Ambiéntales. ISSN: 0187-3296.

Hurtado Zamora José Jesús., Arroyo Figueroa Gabriela. (2007). Ponencia "*Variación de parámetros para obtener las mejores condiciones de teñido en algodón con grana carmín".* Memorias del 13vo. Verano de la Investigación Científica, Dirección de Investigación y Posgrado, Universidad de Guanajuato. 3 de agosto del 2007. Guanajuato, Gto.

Hurtado Zamora José Jesús., Arroyo Figueroa Gabriela., Ruiz Aguilar Graciela M. L. (2008). Ponencia "*Solidez del colorante natural grana carmín sobre la tela de algodón".* Memorias de la XX Jornada de Ingeniería Bioquímica, del 21 al 25 de abril del 2008. Instituto Tecnológico de Celaya, Celaya, Gto.

Arroyo-Figueroa G., Ruiz-Aguilar G. M. L., Cuevas-Rodríguez G., (2008). Cartel. *Efecto del pH durante la decoloración de un efluente textil empleando un hongo ligninolítico*. Memorias del IV Congreso Regional de Biotecnología y Bioingeniería del Sureste, del 22 al 24 de octubre de 2008 en la Ciudad de Mérida Yucatán, México.

Arroyo Figueroa Gabriela, Guillermo González Sánchez, Lorena Vargas Rodríguez, Saavedra Medina Luis Fernando. (2009). Ponencia "*Cultivo del insecto grana carmín (Dactylopius coccus Costa) y su aplicación en el área textil, en la zona sur del estado de Guanajuato*". Memorias del III Foro Internacional Biológico

Agropecuario. Universidad, 21 al 23 de septiembre del 2009. Tuxpan Veracruz. ISBN 978-607-00-01833-6.

Arroyo-Figueroa G., Ruiz-Aguilar G. M. L., López-Martínez L., Cuevas-Rodríguez G., Rodríguez-Vázquez R., y Gonzáles-Sánchez G. (2010). Cartel. "*Degradación de una antraquinona natural con un hongo ligninolítico*". Memorias del 2° Simposio regional y 1° Congreso nacional de biotecnología y producción agrícola sustentable. 18 al 20 de agosto, Jiquilpan.

X.1.1.2 Memorias en congresos

Arroyo Figueroa Gabriela., Ruiz Aguilar Graciela M. L. (2006). Cartel: "*Grana carmine as alternative in the textile industry to reduce environmental contamination*". ASA-CSSA-SSSA 2006 International Meetings. Indianapolis, November 12-16, 2006. EU.

Arroyo Figueroa Gabriela., Ruiz Aguilar Graciela M. L. (2006). Cartel: "*Program to foment agricultural-industrial research in México: Textile, cosmetology and bioremediation*". ASA-CSSA-SSSA 2006 International Meetings. Indianapolis, November 12-16, 2006. EU.

Arroyo-Figueroa G., Ruiz-Aguilar GML. Cuevas-Rodríguez G., y Herrera-Méndez C. H. (2007). Cartel. *"Degradation studies of cochineal extract to promote natural colorants use in textile industry"*. ASA-CSSA-SSSA (American Society of Agronomy. Crop Science Society of America. Soil Science Society) 2007 International Meetings (November 4-8, 2007) New Orleans. E.U.

Arroyo-Figueroa G., González Sánchez G. Vargas Rodríguez L. (2007). Cartel. *"Study of the Best Conditions for Cotton Dyeing with Cochineal".* VI Congreso Internacional de Nopal y Grana Cochinilla y VI Encuentro General de CACTUSNET. Celebrado del 22 al 26 de Octubre. Joao Pessoa- Paraíba Brasil.

Arroyo-Figueroa G., Ruiz-Aguilar GML. Gonzáles-Sánchez G. and Cuevas-Rodríguez G., (2008). Cartel. *"Colour fastness in cotton fabric dyed with cochineal"*. ASA-CSSA-SSSA (American Society of Agronomy. Crop Science Society of America. Soil Science Society) 2008 International Meetings (October 5-9, 2008). Houston, USA.

Arroyo-Figueroa G., Ruiz-Aguilar GML., and Rodríguez-Vázquez R. (2008). Cartel. *"Discoloration of cochineal textile effluent by ligninolytic fungus under solid and liquid conditions"*. ASA-CSSA-SSSA (American Society of Agronomy. Crop Science Society of America. Soil Science Society) 2008 International Meetings (October 5-9, 2008). Houston, USA.

Arroyo Figueroa Gabriela. (2009). Ponencia "*Comparación de la estabilidad del color en el teñido con grana carmín respecto al teñido con colorantes sintéticos sobre la tela de algodón*". 1er Encuentro Mexicano del Color, a realizarse el 10, 11 y 12 de septiembre del 2009. México, D.F.

Arroyo-Figueroa G., Graciela M.L Ruiz Aguilar, Germán Cuevas Rodríguez, Guillermo González Sánchez y Herrera Méndez C. H. (2009). Cartel. "*Evaluation of fatness of the colorant cochineal against to synthetic colorants applied on cotton fabric"*. ASA-CSSA-SSSA (American Society of Agronomy. Crop Science Society of America. Soil Science Society) 2009 International Meetings (November 1-5, 2009). Pittsburg, USA.

Arroyo-Figueroa G., Graciela M.L Ruiz Aguilar, Refugio Rodríguez Vázquez, Guillermo González Sánchez (2009). Cartel. "*Biological decolorization of a textile effluent with cochineal extract"*. ASA-CSSA-SSSA (American Society of Agronomy. Crop Science Society of America. Soil Science Society) 2009 International Meetings (November 1-5, 2009). Pittsburg, USA.

X.1.1.3 Trabajos publicados en revistas

Arroyo-Figueroa G., Vargas-Rodríguez L., González-Sánchez G. (2008). *Study of consitions for cotton dyeing with cochineal.* Acta Horticulturae (ISHS) no. 811. Pp. 241-246. ISBN: 978 90 66 05 109 6.

Arroyo-Figueroa G., Ruiz-Aguilar G. M. L., López-Martínez L., González-Sánchez G. y Rodríguez-Vázquez R. (2011) "*Decolorization of a textile effluent with the fungus Trametes versicolor".* TheScientificWorldJOURNAL. Vol. 11, Pp. 1005-1016. ISSN: 1537-744X.

Arroyo-Figueroa G., Ruiz-Aguilar G. M. L., Cuevas-Rodríguez G. y González-Sánchez G. (2011). "*Cotton fabric dying with cochineal: Influence of the mordants concentration"*. Coloration Technology. Vol. 127. Pp. 39-46. ISSN: 1478-4408.

Arroyo-Figueroa G., Ruiz-Aguilar G. M. L., Vargas Rodríguez L., González-Sánchez G. (2010). "*Aplicación de productos derivados del insecto Dactylopius coccus Costa*". Acta Universitaria de la Universidad de Guanajuato. Vol. 20. Pp. 51-55. ISSN 0188-6266.

X.1.1.4 Trabajos publicados en libros

Arroyo-Figueroa G., Ruiz- Aguilar G. M. L., González-Sánchez G., Cuevas-Rodríguez G. (2010). *"Evaluación de la estabilidad del color sobre la tela de algodón teñida con grana carmín".* En: Portillo, L. y A. L. Vigueras (eds.). Conocimiento y

aprovechamiento de la grana cochinilla. Universidad de Guadalajara, México. Pp. 199-206. ISBN 978-607-7533-56-6.

Arroyo-Figueroa G., Ruiz- Aguilar G. M. L., González-Sánchez G., Cuevas-Rodríguez G. (2010). *"Procedimiento a nivel laboratorio para fijar el colorante extraído de la grana carmín en la tela de algodón"*. En: Portillo, L. y A. L. Vigueras (eds.). Conocimiento y aprovechamiento de la grana cochinilla. Universidad de Guadalajara, México. Pp. 193-198. ISBN 978-607-7533-56-6.

IX.1.5 Cursos curriculares

Curso: Microbiología (BIO3041), boleta con calificación de 10.0, a nombre de Gabriela Arroyo Figueroa. Curso llevado durante el semestre Enero-Junio del 2008. En la Unidad de Estudios Superiores de Salvatierra, de la Universidad de Guanajuato.

Curso: Introducción a la Ingeniería ambiental, boleta con calificación de 9.0, a nombre de Gabriela Arroyo Figueroa. Curso llevado durante el semestre Agosto-diciembre del 2008. En el Instituto de Ciencias Agrícolas (ICA), de la Universidad de Guanajuato.

IX.1.6 Direcciones de tesis de licenciatura

Marisol Lesso Aguilar, programa de Ingeniería Agroindustrial, trabajo de Tesis: "*Proceso de teñido en tela de algodón con grana carmín y solidez del color*".

Jesús Hurtado Zamora, programa de Ingeniería Agroindustria, trabajo de Tesis: "*Teñido de la tela de la tela de algodón con grana carmín en función de la concentración de los mordientes y pruebas de solidez del color*".

Juan Carlos Chía Perales, programa de Ingeniería Ambiental, trabajo de tesis: "*Tratamiento de un efluente textil por medio de un sistema biológico con biomasa en suspensión*".