

Utilización de bacterias para disolver el índigo para teñir

Señor: He oído que teñir jeans azules causa un montón de contaminación química. ¿Cómo podría reducirse?



Imagen: de Louise Cornelissen, vía Pexels.com

Philip John

Profesor emérito de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Reading (Reino Unido)

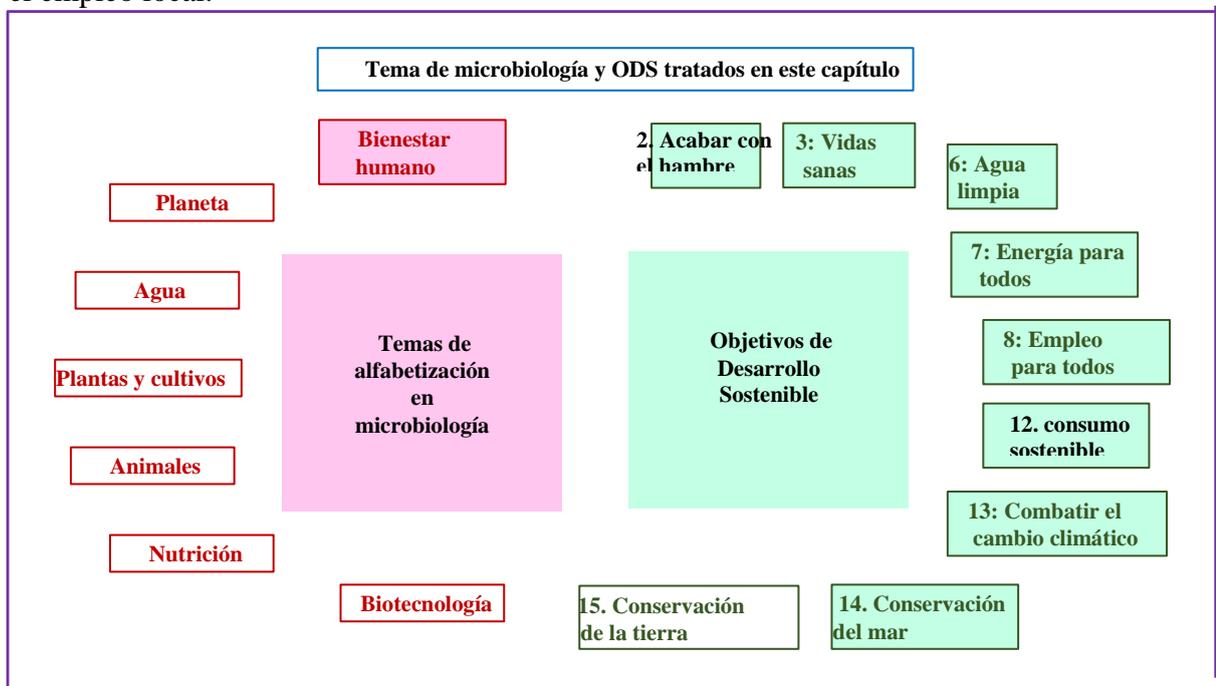
Utilización de bacterias para disolver el índigo para teñir

Sinopsis

El índigo ha sido uno de los tintes favoritos de la humanidad desde la prehistoria, y sigue siendo hoy uno de los tintes textiles más importantes, en gran parte debido a la perdurable popularidad de los jeans. El índigo es insoluble en agua y, para ser utilizado como tinte, debe reducirse químicamente a una forma química soluble e incolora, denominada blanco índigo. Durante los últimos cien años, la industria de la tintura ha confiado en el poder reductor del ditionito de sodio alcalino (también conocido como hidrosulfito de sodio), pero esto da lugar a grandes cantidades de residuos de azufre que hay que eliminar. Antes de la introducción de los métodos químicos, el índigo se disolvía en una cuba de fermentación, donde las bacterias anaerobias reducían el índigo. Este método aún se utiliza a pequeña escala comercialmente en la India. Aprovechar el poder de las bacterias para disolver el índigo en toda la industria ayudaría a reducir el impacto ambiental de la producción de jeans azules.

La microbiología y el contexto social

La microbiología: metabolismo fermentativo de los clostridios, generación de potencial reductor (potencial redox), transición de la población bacteriana de aerobios a anaerobios en la cuba de fermentación, suministro de condiciones óptimas de sustrato y pH para el crecimiento bacteriano, optimización de las condiciones para la reducción del índigo en una época precientífica. *Cuestiones de sostenibilidad:* contaminación ambiental, mantenimiento de técnicas y tradiciones ancestrales en el empleo local.



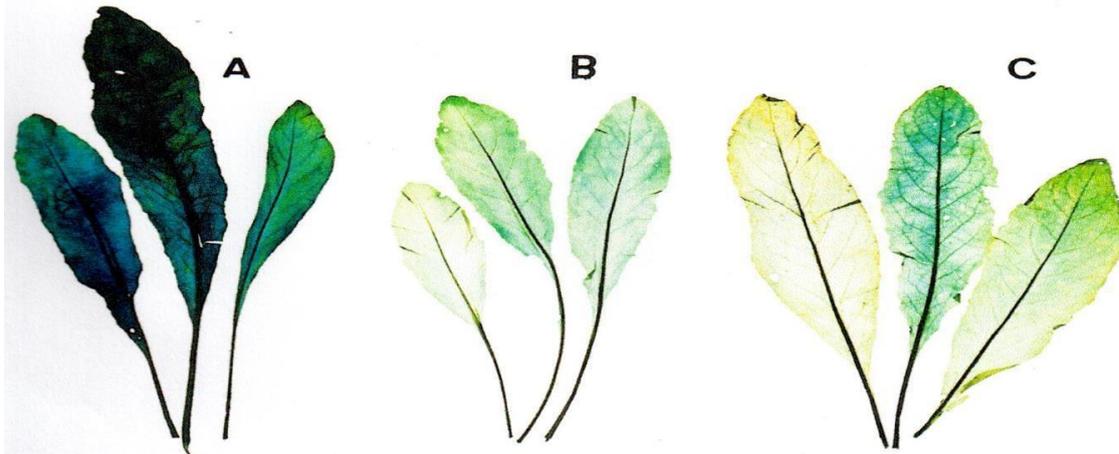
Utilización de bacterias para disolver el índigo para teñir: la Microbiología

1. **El índigo: usos y fuentes tradicionales.** Desde hace miles de años, el índigo se utiliza para teñir todo tipo de tejidos. Antes de la llegada de la industria química en el siglo XIX, cuando todos los tintes eran de origen natural, el índigo era el único tinte azul. Además, era resistente y rápido a la luz, en comparación con otros tintes naturales, lo que significaba que no se desteñía ni siquiera tras largos periodos de exposición a una luz intensa. Ahora que la industria química nos ha proporcionado muchos tintes azules sintéticos alternativos, el índigo sigue siendo el único colorante azul indispensable como tinte para los jeans azules debido a una propiedad única: a medida que los jeans se usan y se lavan, el índigo se desgasta de una manera particular, de modo que los jeans adquieren un aspecto característico que depende de la forma y la actividad del usuario. Los jeans pueden adquirir un aspecto "desgastado" incluso cuando son nuevos mediante el proceso industrial del lavado a la piedra. Aunque sólo se utilizan unos pocos gramos de índigo en cada par de jeans, la producción mundial de jeans es tan grande que cada año se emplean unas 20.000 toneladas de índigo en el teñido.



Imagen por Brianna Swank, vía Pexels.com

Tradicionalmente, el índigo se obtenía de plantas cultivadas, cuyas hojas se recolectaban y procesaban para convertirlas en precursores químicos del índigo. En los climas templados se cultivaba el sargazo (*Isatis tinctoria*), en los trópicos, la planta del índigo (*Indigofera* spp).



Visualización del índigo en las hojas de woad. Todas las hojas se trataron con amoníaco y se extrajeron con acetona y metanol. Las hojas en B y C son controles que han sido (B) hervidas y (C) dejadas secar para destruir el precursor del índigo en las hojas de woad. De Kokubun et al 1998 *Phytochemistry* 49, 79-87

En Europa, el índigo se disolvía para teñir en una fermentación bacteriana llamada cuba de woad. A finales del siglo XIX, el índigo sintetizado por la industria química empezó a sustituir al índigo natural, ya que era más barato y puro. Como consecuencia, las colonias británicas y holandesas de Bengala (actual Bangladesh) y las Indias Orientales Holandesas (actual Indonesia) perdieron valor para las potencias coloniales. Al mismo tiempo, se descubrió un nuevo proceso para disolver el índigo utilizando ditionito de sodio como reductor para disolver el índigo para teñir.

La cantidad de ditionito utilizada por la industria de teñido de jeans es aproximadamente equivalente a la cantidad de índigo utilizada, el ditionito se descompone en compuestos de azufre más simples en el proceso, con el resultado de que alrededor de 20.000 toneladas de residuos de azufre tienen que ser eliminados cada año.

2. La cuba de fermentación tradicional. La cuba de fermentación tradicional se basa en las propiedades catalíticas de las bacterias, con todo el proceso impulsado por sustratos orgánicos que pueden ser los propios residuos de otras industrias, como el salvado de la fabricación de cerveza.



Una cuba de añil de fermentación tradicional utilizada por The Colours of Nature, una empresa comercial con sede en Auroville, en el sur de la India. The Colours of Nature recuperó las antiguas tradiciones relacionadas con el teñido natural por fermentación del índigo tras una larga búsqueda que llevó a su

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

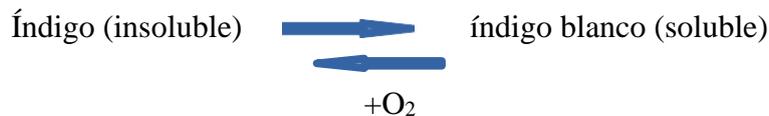
fundador, Jesús Ciriza Larraona, hasta un pequeño pueblo y una familia que había transmitido los conocimientos de las cubas de fermentación del índigo durante generaciones. Desde 1993, Colores de la Naturaleza utiliza la misma agua en sus cubas y nunca desperdicia agua. Los jeans teñidos en sus cubas de fermentación de 200 litros se venden en todo el mundo. Aún no se han identificado las bacterias responsables de la reducción del índigo en estas cubas.

Pero ¿cómo funciona la cuba de fermentación? A partir del siglo XV se imprimieron recetas e "instrucciones de uso" de la cuba de hidromiel:

"Para poner en marcha una cuba con 5 libras de índigo de woad, añadir 15 cubos de agua, 7 libras de potasa, 1,5 libras de madder y 4 puñados de salvado, y calentarlo todo hasta que hierva y dejarlo durante un octavo de hora...". Receta de una tina medieval para teñir con woad (Traducido de: Un Manuale di Tintoria del Quattrocento, un manual italiano de teñido del siglo XV)

Si se instala una de estas cubas, como han hecho los arqueólogos experimentales, se puede reproducir todo el proceso medieval: Un trozo de tela sin teñir sumergido en la cuba se infiltra con el blanco de añil incoloro disuelto. Cuando la tela se saca al aire, el blanco índigo que ha penetrado en las fibras de la tela se oxida con el oxígeno del aire y vuelve a convertirse en índigo y se vuelve azul. La tela puede enjuagarse para eliminar las bacterias y otros restos de la cuba, pero permanece permanentemente teñida de azul por el índigo que se ha infiltrado en las fibras de la tela.

-O₂, ditionito o reducción bacteriana



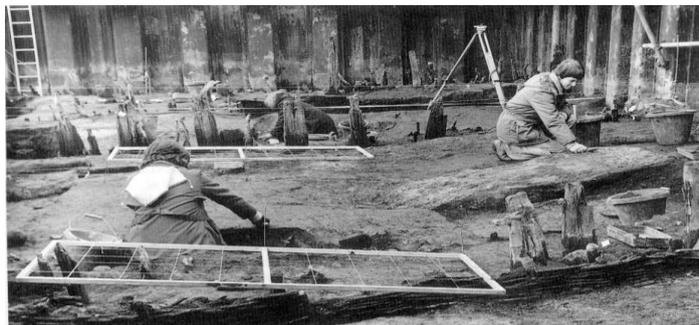
En una época precientífica, a los operarios de la cuba de hidromiel este proceso les debía parecer magia, o alquimia. Pero sabían exactamente cómo manipular las condiciones en la cuba para maximizar su eficacia. El ingrediente básico eran las hojas de woad procesadas que contenían el índigo. A ellas añadían salvado, que proporcionaba a las bacterias un alimento de liberación lenta en forma de hidratos de carbono complejos. También se añadía ceniza de madera (potasa), que servía como álcali, ya que contenía carbonato de potasio. La cuba de fermentación tenía aproximadamente el tamaño de un barril de cerveza grande y se calentaba a unos 50°C con fuego. La adición periódica, cuidadosamente calculada, de ceniza de madera y salvado permitía a la cuba seguir reduciendo el índigo durante meses. ¿Cómo se reducía el índigo?

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez



Tina medieval de hidromiel 1482. Los tintoreros agitan la cuba con largas varas. La complicación de esta escena radica en que, tras haber teñido de azul un paño, los tintoreros están teñiendo de rojo otro. Es probable que esto fuera en contra de las normas que regulan su oficio, y están siendo espiados por las tres personas en el fondo a la izquierda. (De: Teñir paños de lana, de "Des Proprietez des Choses" de Bartholomaeus Anglicus British Library Royal MS 15.E.iii, folio 269).

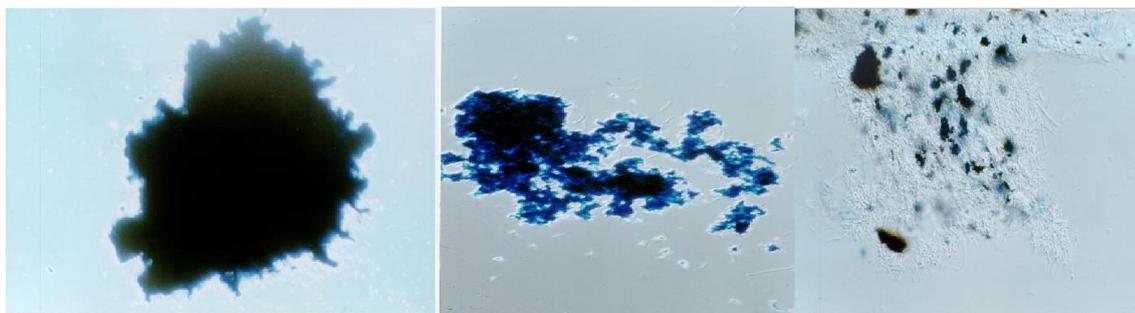
3. **La microbiología de la reducción tradicional del índigo.** Ahora sabemos que el agente responsable de la reducción del índigo en la cuba tradicional europea era una bacteria llamada *Clostridium isatidis*. Este anaerobio fue aislado por microbiólogos a partir de una cuba de hidromiel medieval instalada en un laboratorio según la receta medieval. Hay dos razones por las que creemos que esta bacteria fue la responsable de la reducción del índigo. En primer lugar, un cultivo puro del organismo en un medio químicamente definido redujo y, por tanto, disolvió el índigo, cuando se eliminó el oxígeno. En segundo lugar, se cultivó *C. isatidis* a partir de esporas halladas en el sedimento de una cuba de woad que los arqueólogos habían encontrado en una excavación en York datada en el periodo vikingo (alrededor del año 1.000 de nuestra era). Las esporas eran viables, ¡después de mil años enterradas!



*Arqueólogos en la excavación del York vikingo. En esta excavación se encontró una muestra del sedimento de una cuba de hidromiel, en la que germinaron esporas de la bacteria *Clostridium isatidis*, reductora del índigo.*

Inicialmente, la cuba de woad contiene oxígeno del aire, pero las bacterias de respiración aeróbica consumen rápidamente este oxígeno y cuando se agota dejan de crecer, las condiciones anaeróbicas resultantes favorecen el crecimiento de bacterias fermentadoras, como *C. isatidis* y proporcionan las condiciones para la reducción del índigo.

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez



Secuencia de imágenes de microscopio óptico que muestra la disolución del índigo azul por la bacteria Clostridium isatidis. Las bacterias en multiplicación se muestran como bastoncillos blancos que se agrupan alrededor de la partícula de índigo que desaparece gradualmente y que se reduce al blanco índigo incoloro y soluble. (Inédito, P. John).

Las bacterias fermentadoras producen gases y ácidos como subproductos de la descomposición de los hidratos de carbono que consumen, por lo que la cuba efervesce cuando las bacterias fermentadoras están activas y el pH disminuye. En el caso de la cuba de woad, los gases que se desprenden son hidrógeno y dióxido de carbono. Si se dejara que los ácidos se acumularan y no se neutralizaran, las bacterias dejarían de crecer, ya que el pH de la cuba descendería demasiado. Los operarios medievales eran conscientes de que tenían que mantener la cuba "dulce" añadiendo ceniza de madera para que siguiera funcionando. Ahora sabemos que la ceniza de madera contiene un álcali en forma de carbonato de potasio. También sabemos que la reducción del índigo a blanco de índigo se ve favorecida por un pH alcalino, por lo que los tintoreros tenían que conseguir el pH justo, suficientemente alcalino para que el índigo se redujera, pero no demasiado alcalino, en cuyo caso las bacterias no habrían podido prosperar. Todo esto lo conseguían sin medidor de pH ni papel tornasol, sino que se basaban en los conocimientos tradicionales transmitidos por los maestros de su oficio y en la práctica.

Existen pruebas de que la cuba de hidromiel ya se utilizaba en la prehistoria, y una de las primeras observaciones escritas es la de Julio César a mediados del siglo 1st a.C., quien observó que: "Todos los britanos se tiñen el cuerpo con hidromiel (*vitrum*), que produce un color azul, lo que les da un aspecto más aterrador en la batalla". Otros escritores clásicos lo confirmaron, como Plinio en el siglo 1st d.C.: "En la Galia hay una planta parecida al llantén, llamada *glastum*, con la que las esposas de los britanos y sus nueras se tiñen todo el cuerpo, y en ciertas ceremonias religiosas desfilan desnudas, con un color parecido al de los etíopes". Estos británicos de la Edad de Hierro tardía podrían haber utilizado el pigmento índigo en polvo mezclado con huevo, grasa de vaca o leche para hacerse tatuajes o pintarse el cuerpo. También es posible que se sumergieran en una cuba de hidromiel y se tiñeran la piel como se tiñen las telas. (Hay una divertida canción que celebra este arte corporal, The National Anthem of the Ancient Britons: https://www.monologues.co.uk/Parodies/Ancient_Britons.htm. He aquí una selección de diferentes personas cantando el himno para adaptarse a diferentes públicos: <https://www.youtube.com/watch?v=em4F-DXsM-Q>, <https://www.youtube.com/watch?v=dAs1-4ZM2Ms>, <https://www.youtube.com/watch?v=FwILA4KF-No>).

4. La fermentación tradicional del índigo en los tiempos modernos. Aún hoy se pueden comprar jeans teñidos en una cuba de fermentación. Se fabrican en la India (<https://www.youtube.com/watch?v=hes05oYzd6c>). No sabemos qué bacterias son las responsables de la reducción del índigo en estas cubas, pero tienen algo en común con la cuba de hidromiel medieval. Tanto en la cuba de woad medieval como en las cubas indias, la tradición es añadir a las cubas una pequeña cantidad de un ingrediente que ayudaba al teñido. En el caso de la tinaja de woad, se trataba de la rubia (véase la receta más arriba), un colorante natural utilizado para teñir de rojo las

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

telas, en la India, se trata de semillas de *Cassia tora*, una mala hierba común en los trópicos. Tanto la rubia como las semillas de *Cassia* contienen compuestos orgánicos llamados **antraquinonas**. De hecho, se puede demostrar en el laboratorio que una antraquinona sintética pura acelera el proceso de reducción del índigo. Los experimentos de fisicoquímica demuestran que la antraquinona interactúa con la estructura cristalina del índigo insoluble para facilitar su reducción al blanco índigo soluble. Así que, de nuevo, sin ningún conocimiento de la química tal y como la entendemos hoy en día, los operadores medievales y contemporáneos de la cuba de añil de fermentación han aprendido a optimizar la química del proceso.

Relevancia para los Objetivos de Desarrollo Sostenible y los Grandes Retos

- **Objetivo 6. Garantizar la disponibilidad y la gestión sostenible del agua y el saneamiento para todos** (*garantizar agua potable, mejorar la calidad del agua, reducir la contaminación, proteger los ecosistemas relacionados con el agua, mejorar la gestión del agua y el saneamiento*). El sistema bacteriano de reducción del índigo aquí descrito utiliza menos agua y produce menos contaminación en forma de residuos de azufre que el proceso industrial de reducción química empleado actualmente, ya que las cubas de fermentación, una vez montadas, pueden mantenerse durante largos periodos de tiempo. Sin embargo, la escala y la velocidad de la producción industrial moderna exigen mucha investigación para su ampliación.
- **Objetivo 8. Promover el crecimiento económico sostenido, inclusivo y sostenible, el empleo pleno y productivo y el trabajo decente para todos** (*promover el crecimiento económico, la productividad y la innovación, la empresa y la creación de empleo*). El método de fermentación para la reducción del índigo proporciona empleo local a un número significativo de personas, aunque se trata de un proceso especializado **en un nicho** industrial, como el que funciona actualmente en la India (<https://www.youtube.com/watch?v=UEMcjmyjoOY>). La ampliación a un proceso industrial moderno requeriría una considerable labor de investigación y desarrollo en el sistema bacteriano para descubrir cómo controlar el proceso bacteriano y también proporcionar la velocidad de reducción que exigen las condiciones económicas modernas. Sin embargo, esto también crearía empleo para personal cualificado y ayudaría a promover un futuro sostenible.
- **Objetivo 12. Garantizar modelos de consumo y producción sostenibles** (*lograr prácticas de producción y uso/consumo sostenibles, reducir la producción de residuos/la liberación de contaminantes al medio ambiente, alcanzar ciclos de vida de residuo cero, informar a la población sobre prácticas de desarrollo sostenible*). El sistema bacteriano de reducción del índigo ofrece un proceso sostenible que utiliza sustratos de carbohidratos baratos y fáciles de obtener para generar un potencial reductor suficiente para la reducción del índigo. En efecto, las células bacterianas actúan como **electrodos dispersos a escala micrométrica** que suministran electrones reductores a las partículas de índigo. Sin embargo, habría que garantizar la seguridad de las bacterias reductoras del índigo, por ejemplo, algunas personas podrían mostrar una reacción alérgica a las bacterias reductoras del índigo que permanecieran en el tejido teñido. No obstante, si pudiéramos descubrir el mecanismo químico/bioquímico que utilizan las bacterias para reducir el índigo, podríamos aplicarlo en un **proceso electroquímico** a gran escala de reducción del índigo. De este modo se sustituiría la química por la física.

Posibles implicaciones para las decisiones

La tecnología actual de reducción del índigo está bien establecida y las inversiones que ya se han hecho en estas plantas industriales permiten un proceso de teñido barato para el producto de gran consumo que son los jeans. Si invirtiéramos en un proceso electroquímico limpio derivado de la investigación sobre la reducción bacteriana del índigo, los jeans podrían encarecerse. ¿Estamos

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

dispuestos a pagar más?

La base empírica

- Kokubun, T., Edmonds, J and John, P. (1998) Indoxyl derivatives in woad (*Isatis tinctoria*) in relation to medieval indigo production. *Phytochemistry*, 49, 79-87.
- Padden, A.N., Dillon, V.M., John, P. Edmonds, J., Collins, M.D., y Alvarez, N. (1998) *Clostridium* utilizado en el teñido medieval. *Nature*, 396, 225.
- Padden, A.N., John, P., Collins, M.D., Hutson, R. y Hall, A.R. (2000) Indigo-reducing *Clostridium isatidis* isolated from a variety of sources, including a tenth century Viking woad vat. *Journal of Archaeological Science*, 27, 953-956.
- Garcia-Macias, P and John, P (2004) The Formation of Natural Indigo derived from Woad (*Isatis tinctoria* L.) in Relation to Product Purity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 7891-7896.
- Nicholson, SK y John, P (2005) The mechanism of bacterial indigo reduction. *Microbiología aplicada y biotecnología*, 68, 117-123.
- Carr, G (2005) Woad, tattooing and identity in later Iron Age and early Roman Britain. *Oxford Journal of Archaeology* 24, 273-292.
- John, P. (2006) Indigo reduction in the woad vat: a medieval biotechnology revealed. *Biologist* 53, 31-35
- Blackburn, RS, Bechtold, T y John, P. (2009) The development of indigo reduction methods and pre-reduced indigo products. *Coloration Technology* 125, 193-207.

Para saber más

The Colours of Nature, Auroville, Tamil Nadu, India. <http://thecoloursofnature.com>

Balfour-Paul, J. (2006) Indigo <https://www.britishmuseumshoponline.org/indigo.html>

Glosario

Poder reductor. Capacidad de una sustancia química para reducir, es decir, donar electrones, a otra sustancia química. Un agente reductor potente tendrá un potencial de oxidación/reducción (o redox) muy negativo.

Fermentación. Los organismos vivos obtienen energía metabólica (ATP) a partir de reacciones de oxidación-reducción, transfiriendo electrones de un donante de electrones a un aceptor de electrones. En la fermentación, el aceptor final de electrones es un compuesto orgánico.

Respiración aeróbica. Los organismos vivos obtienen energía metabólica (ATP) a partir de reacciones de oxidación-reducción, transfiriendo electrones de un donante de electrones a un aceptor de electrones. En la respiración aeróbica, el aceptor final de electrones es el oxígeno molecular.

Proceso electroquímico. Reacción química impulsada por la aplicación de una corriente eléctrica, o a la inversa, en la que una reacción química crea una corriente eléctrica. El primer proceso puede utilizar la electricidad para reducir un compuesto como el índigo sin recurrir a un reductor químico como el ditionito.

Producto nicho. Producto dirigido a un sector específico de un mercado más amplio. Los productos nicho se dirigen a una demanda concreta y suelen ser más caros que los productos más vendidos.

Ditionito de sodio. Fuerte agente reductor utilizado industrialmente para reducir el índigo. También se conoce como hidrosulfito sódico. En solución alcalina, el ditionito ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) reacciona directamente con el O_2 para formar sulfito y sulfato.