

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 399 247**

51 Int. Cl.:

**B01J 31/00** (2006.01)

**B01J 37/34** (2006.01)

**D06P 1/32** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.05.2005 E 05771030 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.11.2012 EP 1763398**

54 Título: **Medios para la coloración de soportes**

30 Prioridad:

**14.05.2004 FR 0405305**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**27.03.2013**

73 Titular/es:

**DOUBLET, LUC (50.0%)  
Rue des Recollets, 40  
7500 Tournai, BE y  
DOUBLET S.A. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**DOUBLET, LUC;  
THOMAS, DANIEL;  
BEDEL-CLOUTOUR, CATHERINE;  
PULVIN-HOUDE, SYLVIANE y  
BEDOUET, LAURENT**

74 Agente/Representante:

**RUO, Alessandro**

**ES 2 399 247 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Medios para la coloración de soportes

- 5 **[0001]** La presente invención tiene por objeto unos medios, productos y procedimiento, para la coloración de soportes, materiales inorgánicos u orgánicos, en particular materias vivas como la piel.
- 10 **[0002]** Es habitual imprimir soportes, como papeles o tejidos, por medio de tintas. Ese tipo de técnica la utiliza en la actualidad la solicitante para realizar la coloración de soportes a partir de los tres colores primarios (amarillo, cian y magenta) proporcionados por tintas, obteniéndose el negro al utilizar una tinta negra, dando el blanco el propio soporte. El soporte que hay que colorear discurre, por ejemplo en forma de hoja, a través de una impresora que distribuye, punto por punto, unas gotas de tinta de algunos nanolitros de acuerdo con un diseño prefigurado, de manera ventajosa por ordenador. Sin embargo, el brazo que distribuye las tintas debe pasar varias veces por el mismo punto para obtener la intensidad deseada, lo que consume tiempo.
- 15 **[0003]** Además, algunas tintas químicas se consideran contaminantes para el medioambiente.
- 20 **[0004]** Se han dado a conocer algunas técnicas basadas en la utilización de enzimas. Así pues, la patente EP 1 342 831 describe un procedimiento de coloración de tejidos mediante enzimas, que comprende la inmersión del tejido en una solución acuosa que comprende uno o varios compuestos aromáticos o heteroaromáticos, seguida de la impregnación del material empapado en una solución acuosa con una fuente de peróxido de hidrógeno y una enzima que presenta una actividad peroxidasa, o con una enzima que presenta una actividad oxidasa sobre dicho o dichos compuestos aromáticos o heteroaromáticos.
- 25 **[0005]** En este procedimiento no hay ningún control de los elementos que se fijan durante las diferentes inmersiones de las muestras, y de manera particular del catalizador de oxidación. Este último únicamente se enlaza por absorción y, por lo tanto, se puede eliminar a lo largo de los lavados. Además, los colores que se obtienen no son los colores primarios.
- 30 **[0006]** Los inventores han constatado que estos problemas se podrían superar al sustituir estas tintas y estas enzimas por unos sistemas catalíticos fotoactivables y capaces de generar los tres colores primarios cuya asociación puede conducir a unos compuestos coloreados.
- 35 **[0007]** La invención tiene, por lo tanto, como objetivo proporcionar estos sistemas, así como un procedimiento de generación de color sobre un soporte que se basa en su utilización, en el cual los colores únicamente se muestran sobre dicho soporte en el momento deseado y en la ubicación deseada.
- 40 **[0008]** Otro objetivo de la presente invención se refiere a un procedimiento de coloración de un soporte en el cual dicho soporte se puede volver a utilizar varias veces con el fin de generar otros colores diferentes de los que se han generado inicialmente.
- [0009]** El término "soporte", tal y como se utiliza en la descripción y las reivindicaciones, designa unos materiales inorgánicos u orgánicos, en particular unas materias vivas como la piel.
- 45 **[0010]** Los sistemas catalíticos que se utilizan de acuerdo con la invención para la generación de colores sobre un soporte se caracterizan porque comprenden uno o varios catalizadores de oxidación inactivos que consisten en hemoglobinas inactivadas por unos grupos fotolábiles constituidos por un grupo -o-nitrofenilo.
- 50 **[0011]** La hemoglobina, y en particular la hemoglobina bobina, puede oxidar algunos sustratos de la peroxidasa: la reticulación de la hemoglobina, que tiene como objetivo crear un fenómeno de amplificación, permite aproximarse a los rendimientos de la peroxidasa.
- [0012]** De manera ventajosa, los sustratos de estos catalizadores son numerosos y están disponibles a precios poco elevados. Su oxidación produce numerosos compuestos coloreados insolubles en el agua (Conyers y Kidwell (1991), Anal. Biochem., 192, págs. 207-211).
- 55 **[0013]** De acuerdo con la invención, los catalizadores de oxidación están asociados a unos sustratos cromógenos que se utilizan en combinación con unos compuestos aromáticos.
- 60 **[0014]** Por « sustrato cromógeno » se entiende unos compuestos que funcionan de manera reversible con los catalizadores y capaces de llevar a un compuesto coloreado tras su oxidación por el catalizador y su condensación con los compuestos aromáticos.
- 65 **[0015]** De manera general, los sistemas catalíticos de la invención son unos sistemas capaces de fotorreactivarse y de volver a una actividad de oxidación suficiente como para generar colores.

**[0016]** Para obtener los 3 colores primarios (cian, magenta y amarillo), los sustratos que describen, por ejemplo, Conyers y Kidwell (1991, citados con anterioridad) son especialmente adecuados ya que dan con rapidez unos productos azul y rojo insolubles, que precipitan *in situ*.

5 **[0017]** Se citará, en particular, la hidrazona de la 3-metil-2-benzotiazolinona (MBTH) y de los derivados de la fenilenediamina, como la dimetil fenilenediamina y la dietil fenilenediamina.

10 **[0018]** Como compuestos aromáticos que se pueden utilizar para que reaccionen con los sustratos cromógenos oxidados y que conduzcan a un precipitado coloreado, se citarán los cloronaftoles, los naftalenodios, los aminofenoles, los catecoles, los clorofenoles, el fenol y el gaiacol, o cualquier otra molécula que pertenezca bien a la familia de los compuestos aromáticos mono-, di- o poli-cíclicos, o bien a la familia de los derivados heteroaromáticos.

15 **[0019]** La invención también tiene por objeto un procedimiento de generación de colores sobre un soporte, que se caracteriza porque comprende la reactivación bajo el efecto de un estímulo luminoso de uno o varios catalizadores de oxidación inactivados, como los que se han definido con anterioridad, que impregnan dicho soporte. Los catalizadores de oxidación se inactivan, por lo tanto, temporalmente para permitir la aplicación de la invención. Su reactivación va a permitir la generación de colores en la ubicación deseada, en el momento deseado.

20 **[0020]** De preferencia, este procedimiento comprende:

- a) una etapa de inhibición fotorreversible de uno o varios catalizadores de oxidación;
- b) una etapa de inmovilización del o de los catalizadores de oxidación temporalmente inactivado(s) como los que se obtienen al final de la etapa a) sobre un soporte que hay que colorear, realizándose en particular dicha etapa de inmovilización mediante la impregnación del soporte que hay que colorear en una solución que comprende el o los catalizadores de oxidación inactivados;
- c) una etapa de estimulación luminosa del soporte impregnado tal y como se obtiene al final de la etapa b) que permite reactivar el o los catalizadores de oxidación temporalmente inactivados;
- d) una etapa de impregnación del soporte sobre el cual se ha inmovilizado el o los catalizadores de oxidación al final de la etapa c), con una solución que comprende uno o varios sustratos cromógeno(s) y uno o varios oxidantes, que permiten de este modo desarrollar los colores sobre el soporte, en el lugar activado por la estimulación luminosa. La etapa a) se realiza de manera ventajosa haciendo reaccionar los catalizadores de oxidación empleados con unos compuestos que contienen unos grupos fotolábiles como los que se han definido con anterioridad. Los compuestos que contienen grupos -O-nitrobencilo son, a este respecto, especialmente ventajosos. Estos compuestos pueden fijarse, en efecto, de forma espontánea, por covalencia, en los ácidos aminados, en particular del sitio activo, por ejemplo los motivos lisina, asparagina, glutamina o también cisteína. De este modo, para la fijación en las lisinas, se utilizará de manera ventajosa un compuesto como el 3,4-dimetoxi-O-nitrobencil-cloroformato. La reacción se puede llevar a cabo en un medio acuoso. Para la reacción con unos motivos que comprenden una función carboxílica, por ejemplo aspártica o glutámica, se prepara un derivado diazoetano a partir de un derivado hidrazonoetano.

40 **[0021]** La etapa b) comprende la impregnación de un soporte con el catalizador disuelto en unas condiciones que permiten obtener la intensidad deseada para un color.

45 **[0022]** El soporte es, por ejemplo, un tejido formado por fibras naturales, en particular de algodón, y/o por fibras sintéticas, o de un material polímero, como un poliéster. También puede tratarse de papel.

**[0023]** La solución de catalizador es de manera ventajosa una solución acuosa y contiene unas cantidades de catalizador del orden de entre 50 y 200 µg/ml para Hb con un nivel de pH de entre 4 y 6 aproximadamente.

50 **[0024]** Antes de la etapa b) de inmovilización, se procede de manera ventajosa a una etapa previa de impregnación del soporte que hay que colorear con una solución que comprende uno o varios aditivos capaces de enlazar el o los catalizadores de oxidación con el soporte que hay que colorear.

55 **[0025]** De acuerdo con un modo de realización del procedimiento de la invención, cuando el soporte que hay que colorear es un tejido sintético, se procede a una etapa de impregnación previa con alginato, en particular alginato de calcio; la presencia de este polisacárido ácido hace posible la inmovilización de una cantidad importante de catalizador de oxidación sobre el tejido por enlace covalente tras la activación de las funciones carboxílicas en funciones ésteres NHS mediante la combinación carbodiimida hidrosoluble [EDC]: *N*-Etil-*N'*-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida, *N*-Ciclohexil-*N'*-(2-morfolinoetil) carbodiimida meto-*p*-toluenosulfonato / hidroxisuccinimida (NHS).

60 **[0026]** En la etapa previa de impregnación, el alginato presente en la superficie del tejido (1 cm<sup>2</sup>) se activa en el agua durante entre 5 y 30 minutos mediante la combinación EDC/NHS (200 µg/200) en un volumen que varía de 2 a 4 ml aproximadamente.

65 **[0027]** El tejido activado se sumerge en una solución de catalizador de oxidación con las concentraciones indicadas previamente, mantenida en un pH de entre 6 y 7. El tiempo de acoplamiento varía de 30 a 90 min

aproximadamente.

**[0028]** De acuerdo con otra disposición preferente de la invención, al finalizar la etapa previa de activación y de impregnación del soporte que hay que colorear con una solución que comprenden uno o varios aditivos, se procede a una etapa de secado. El secado se realiza de manera ventajosa en frío para no dañar los catalizadores.

**[0029]** La estimulación luminosa necesaria para la reactivación tiene lugar a 355 nm durante entre 5 y 30 min.

**[0030]** Para la etapa d), se impregna el soporte con una solución que contiene uno o varios sustratos cromógenos, que son unos sustratos para el catalizador, uno o varios compuestos aromáticos y uno o varios agentes oxidantes.

**[0031]** Las concentraciones en sustratos varían de 1 a 4 mM y las concentraciones de oxidantes se fijan en 1 mM; las concentraciones de cada uno de los miembros de la combinación de sustratos varían de 1 a 4 mM aproximadamente. Esta mezcla se realiza en un medio tamponado de entre 4,5 y 6 aproximadamente, a una temperatura de entre 20 y 25 °C aproximadamente, hasta que se desarrolla la o las coloraciones.

**[0032]** La condensación de los sustratos oxidados con los compuestos aromáticos conduce a la formación de compuestos coloreados que precipitan *in situ* en el lugar mismo de la transformación de los precursores (sustratos cromógenos).

**[0033]** Para que el soporte que hay que colorear se mantenga incoloro en presencia de los sustratos cromógenos, es necesario obtener una inhibición total de la actividad del catalizador de oxidación.

**[0034]** Por inhibición total se entiende una inhibición que varía de alrededor de un 80 % a alrededor de un 100 %, y de preferencia de alrededor de un 90 % a alrededor de un 98 %.

**[0035]** La reactivación, incluso parcial, del catalizador de oxidación mediante fotólisis basta para desencadenar el procedimiento de generación de colores.

**[0036]** Se entiende por reactivación parcial una reactivación que varía de alrededor de un 10 % a alrededor de un 30 %, y de preferencia de alrededor de un 20 % a alrededor de un 25 %. De este modo, una recuperación tras la irradiación de la actividad del catalizador del orden de alrededor de un 25 % basta para desencadenar el procedimiento de generación de colores.

**[0037]** Bajo el efecto de un estímulo luminoso los grupos fotolábiles se eliminan mediante fotólisis dejando el blanco inicial (catalizador de oxidación) químicamente intacto y biológicamente activo. El catalizador de oxidación que se obtiene se reactiva parcialmente.

**[0038]** A continuación se produce una reacción química tal que hace que intervengan el sustrato aromático, el catalizador de oxidación total o parcialmente reactivado, un oxidante y el compuesto aromático, lo que conduce a la obtención de un producto coloreado. El procedimiento de la invención presenta varias ventajas, en particular con respecto a un procedimiento de coloración clásico que utiliza tintas. En efecto, de acuerdo con el procedimiento de la invención, se puede obtener una coloración más rápida de los soportes que con la impresión punto por punto, una mejor resolución, correspondiendo el tamaño del píxel a la dimensión del catalizador de oxidación inmovilizado, y los problemas relacionados con la obstrucción de las cabezas distribuidoras de tintas.

**[0039]** También tiene por objeto un procedimiento como el que se ha definido con anterioridad en el cual el soporte consiste en macromoléculas, por ejemplo celofán, y lleva un sistema catalítico como el que se ha descrito con anterioridad. La cara de la película en contacto con la piel está estriada para desempeñar el papel de colimador frente a los fotones gamma. De acuerdo también con otro aspecto de la invención de gran interés, la invención tiene por objeto la aplicación en cosmética del procedimiento de generación de colores sobre la piel. Otros aspectos y ventajas de la presente invención se mostrarán en los ejemplos que se dan a continuación, que ilustran la generación de colores sobre un soporte de algodón o de poliéster.

**EJEMPLO 1:** Utilización de la hemoglobina

1) Inhibición fotorreversible de la hemoglobina

**[0040]** La hemoglobina bovina en solución acuosa (32 µM) se trata con diferentes concentraciones de 1-(2-nitrofenil)-diazotetano (NP-diazo) disuelta en DMSO, a 20 °C durante 1 h, a oscuras. La concentración final en DMSO no debe superar el 5 %. Las concentraciones de NP-diazo varían de 50 a 100 equivalentes con respecto a la hemoglobina. La reacción de acoplamiento se detiene mediante la adición de una solución de tampón acetato 100 mM de pH 4,4 (1 equivalente con respecto al NP-diazo). Los tiempos de contacto varían de 10 a 30 min. La mezcla reactiva se dializa a continuación contra agua, a entre 4 y 20 °C, entre 1 y 16 horas contra 1.000 volúmenes de agua. El conjugado se almacena a 20 °C.

**[0041]** El porcentaje de inhibición de la oxidación del ABTS [sal de diamonio del ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolinona-6-sulfónico), 1 mM] se determina antes de la diálisis sobre las placas de microtitulación de 96 pozos (Costar, Corning Incorporated) en tampón acetato de sodio, 50 mM, de pH 5, en presencia de 1 mM de peróxido de hidrógeno. El número de moléculas fijadas por molécula de hemoglobina se determina mediante espectrometría de masas (electro spray). Los resultados se presentan en la tabla 1.

TABLA 1

Conjugados NPE-hemoglobina	Números de NPE fijados/molécula Hb	Actividad residual (%)
Hemoglobina nativa	0	100
Hb-50*	de 0 a 5	12,6
Hb-75*	de 1 a 6	5,4
Hb-100*	de 1 a 6	2,5

\* 50, 75 y 100 correspondiendo al número de equivalentes NPE introducidos en el medio reactivo.

**[0042]** El tratamiento de la hemoglobina con NP-diazo, conduce a una fuerte inhibición de la actividad oxidativa (superior al 90 %).

### 2) Fotorreactivación del catalizador de oxidación

**[0043]** El catalizador de oxidación se reactiva mediante la irradiación de las soluciones de los diferentes conjugados (1 mg/ml) en tampón acetato de sodio (25 mM, pH 4,4). La fotólisis tiene lugar a 366 nm (lámpara de UV de 100 W, 7 mW/cm<sup>2</sup> a una distancia de 30 cm); los tiempos de irradiación varían de 5 a 30 min. Esta etapa se realiza de manera ventajosa en presencia de 5 mM de 2-etanolamina con el fin de detener las eventuales reacciones cruzadas entre productos de fotólisis y hemoglobina.

**[0044]** Tras 30 minutos de irradiación, la desprotección de la hemoglobina es total.

**[0045]** La restauración de la actividad enzimática se determina en unas placas de microtitulación tal y como se ha descrito con anterioridad, en presencia de ABTS (1 mM) y de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 mM).

**[0046]** Tras 30 minutos de irradiación se recupera el 57 % de la actividad para Hb-50, el 28 % para Hb-75 y el 16 % para Hb-100. Estos porcentajes de actividad son suficientes para desencadenar a continuación el procedimiento de generación de la coloración.

### 3) Fijación de las enzimas sobre el soporte que hay que colorear

**[0047]** El catalizador de oxidación, hemoglobina bobina, se fija de forma covalente sobre los tejidos de poliéster pre-impregnados con el alginato de calcio.

**[0048]** Las funciones carboxílicas del polisacárido se activan en el agua, en presencia de la combinación EDC/NHS, durante un intervalo de tiempo que varía de 10 a 30 min. Para 1 cm<sup>2</sup> de tejido las cantidades de activadores carbodimida/N-hidroxisuccinimida son de 200 µg cada una en unos volúmenes que varían de 2 a 4 ml. El tejido activado de este modo se sumerge en una solución de catalizador de oxidación en una concentración de entre 50 y 200 µg/ml con pH 6. El tiempo de incubación varía de 45 a 90 min.

**[0049]** En estas condiciones, el tejido está de este modo listo para que lo irradien con el fin de reactivar el catalizador de oxidación, a continuación para que lo impregnen con la solución que contiene el o los pares de sustratos cromógenos.

### 4) Impregnación con las combinaciones de sustratos cromógenos y el oxidante

a) Utilización de la combinación DMPDA/4-cloronaftol

**[0050]** El tejido anteriormente reactivado se sumerge en una solución tamponada entre pH 4,5 y 6, que comprende la dimetil-fenilendiamina (solución madre preparada en agua, 110 mM), el 4-cloronaftol (solución madre preparada en etanol, 110 mM). Sus concentraciones finales varían de 1 a 4 mM. Se añade el oxidante, el peróxido de hidrógeno; su concentración se fija de manera ventajosa en 1 mM. La reacción se lleva a cabo a entre 20 y 25 °C, hasta el desarrollo del color azul.

b) Utilización de la combinación MBTH/4-cloronaftol

**[0051]** Tal y como se ha descrito con anterioridad en el apartado a), el tejido reactivado se sumerge en una solución tamponada entre pH 4,5 y 6, que comprende la 3-metil-benzotiazolina (MBTH, solución madre preparada en

agua, 110 mM), el 4-cloronaftol y el oxidante. Las concentraciones de las diferentes especies, así como las condiciones operativas son las mismas que para a). En este caso, se genera el color rojo.

c) Utilización de la combinación MBTH/1,3-naftalenodiol

5

**[0052]** Tal y como se ha descrito con anterioridad en el apartado a), el tejido reactivado se sumerge en una solución tamponada entre pH 4,5 y 6, que comprende la 3-metil-benzotiazolina (MBTH), la 1,3-naftalenodiol (solución madre preparada en etanol, 110 mM) y el oxidante. Las concentraciones de las diferentes especies, así como las condiciones operativas son las mismas que para a). En este caso, se genera el color amarillo.

10

## REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Sistemas catalíticos para la generación de colores sobre un soporte, **caracterizados por que** comprenden uno o varios catalizadores de oxidación inactivados que consisten en hemoglobinas inactivadas por unos grupos fotolábiles constituidos por un grupo -o-nitrofenilo.
- 2.** Sistemas catalíticos de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizados por que** los catalizadores de oxidación están asociados a unos sustratos cromógenos utilizados en combinación con unos compuestos aromáticos.
- 10 **3.** Sistemas catalíticos de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizados por que** el sustrato se selecciona entre la hidrazona de la 3-metil-2-benzotiazolinona (MBTH) y los derivados de la fenilenodiamina, como la dimetil fenilenodiamina y la dietil fenilenodiamina.
- 15 **4.** Sistemas catalíticos de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, **caracterizados por que** los compuestos aromáticos que se pueden utilizar para reaccionar con los sustratos cromógenos oxidados y conducir a un precipitado coloreado, son unos compuestos aromáticos mono-, di- o policíclicos.
- 20 **5.** Sistemas catalíticos de acuerdo con la reivindicación 4, **caracterizados por que** los compuestos aromáticos se seleccionan entre los cloronaftoles, los naftalenodoles, los aminofenoles, los catecoles, los clorofenoles, el fenol y el gaiacol.
- 25 **6.** Procedimiento de generación de colores sobre un soporte, **caracterizado por que** comprende la reactivación bajo el efecto de un estímulo luminoso de sistemas catalíticos que comprenden uno o varios catalizadores de oxidación inactivados, como los que se definen en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que impregnan dicho soporte.
- 7.** Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6, **caracterizado por que** comprende:
- 30 a) una etapa de inhibición fotorreversible de uno o varios catalizadores de oxidación;  
 b) una etapa de inmovilización del o de los catalizadores de oxidación temporalmente inactivado(s) como los que se obtienen al final de la etapa a) sobre un soporte que hay que colorear, realizándose dicha etapa de inmovilización en particular mediante la impregnación del soporte que hay que colorear en una solución que comprende el o los catalizadores de oxidación inactivados;  
 c) una etapa de estimulación luminosa del soporte impregnado tal y como se obtiene al final de la etapa b) que permite reactivar el o los catalizadores de oxidación temporalmente inactivados;  
 35 d) una etapa de impregnación del soporte sobre el cual se ha inmovilizado el o los catalizadores de oxidación al final de la etapa c), con una solución que comprende uno o varios sustratos cromógeno(s), uno o varios compuestos aromáticos y uno o varios oxidantes, permitiendo de este modo que se desarrollen los colores sobre el soporte en el lugar activado por la estimulación luminosa.
- 40 **8.** Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6 o 7, **caracterizado por que** el soporte está formado por un tejido de fibras naturales y/o de fibras sintéticas o incluso por papel.
- 45 **9.** Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, **caracterizado por que** el soporte de fibras naturales es de algodón.
- 10.** Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, **caracterizado por que** las fibras sintéticas son de un material polímero.
- 50 **11.** Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 10, **caracterizado por que** el material polímero es un poliéster.
- 12.** Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8 y 10 a 11, **caracterizado por que**, cuando el soporte que hay que colorear es un tejido sintético, se procede, antes de la etapa b) de inmovilización, a una etapa de impregnación previa con alginato, en particular con alginato de calcio.
- 55 **13.** Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 12, **caracterizado por que** comprende una etapa de fijación covalente del catalizador de oxidación procediendo a una etapa de activación de las funciones de ácido carboxílico del alginato en ésteres activados, en particular por medio de combinaciones carbodiimida hidrosoluble y N-hidroxisuccinimida.
- 60 **14.** Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 12 o 13, **caracterizado por que**, al finalizar la etapa previa de impregnación con alginato del soporte que hay que colorear, se procede a una etapa de secado.