



# Valorización de residuos sólidos de curtiembre - Biotransformación fúngica del pelo vacuno

**Betina C. Galarza.Enso Hugo Reinoso.(Cátedra de Micología Médica e Industrial.Fac. C.Veterinarias. UNLP)**  
**Luis Goya .Carlos Cantera.(Centro de Investigación y Desarrollo del Cuero)**  
**E-mail: ccitec@infovia.com.ar**

## INTRODUCCION

Con el desarrollo de los procesos de depilado conservadores del pelo, que incluyen el control del proceso de inmunización , el desarrollo de productos depilantes para asistir al sulfuro de sodio y la separación, con equipamiento adecuado del pelo parcialmente degradado, se está produciendo el reemplazo del tradicional "pelambre destructor del pelo" por la generación del "residuo pelo"parcialmente degradado . Estos modernos procesos de depilado, han provocado en el efluente de la ribera, la reducción de la Demanda Química de Oxígeno en un 40%-60%, la concentración de sulfuros a un 50%, y en 70 % los sólidos suspendidos sedimentables.. Estos procesos de generación del "residuo pelo"incorporan el inconveniente de la disposición de este desecho. En un depilado conservador se puede recuperar, en promedio, un 3% de pelo (base seca) del pelo de piel vacuna salada; aproximadamente el 10% de pelo en estado húmedo (humedad 75%). Para una curtiembre que procesa diariamente 25 toneladas de pieles vacunas saladas, esto representa alrededor de 25 ton. de pelo promedio por día. En Argentina se elaboran por año cerca de 12 millones de pieles vacunas, por lo tanto esto es equivalente a 300.000 toneladas de pelo húmedo anuales, de los cuales corresponden a la Pcia. de Buenos Aires el 70% , a Santa Fé, el 26,6%, y al resto del país un 3,3%.

## OBJETIVOS

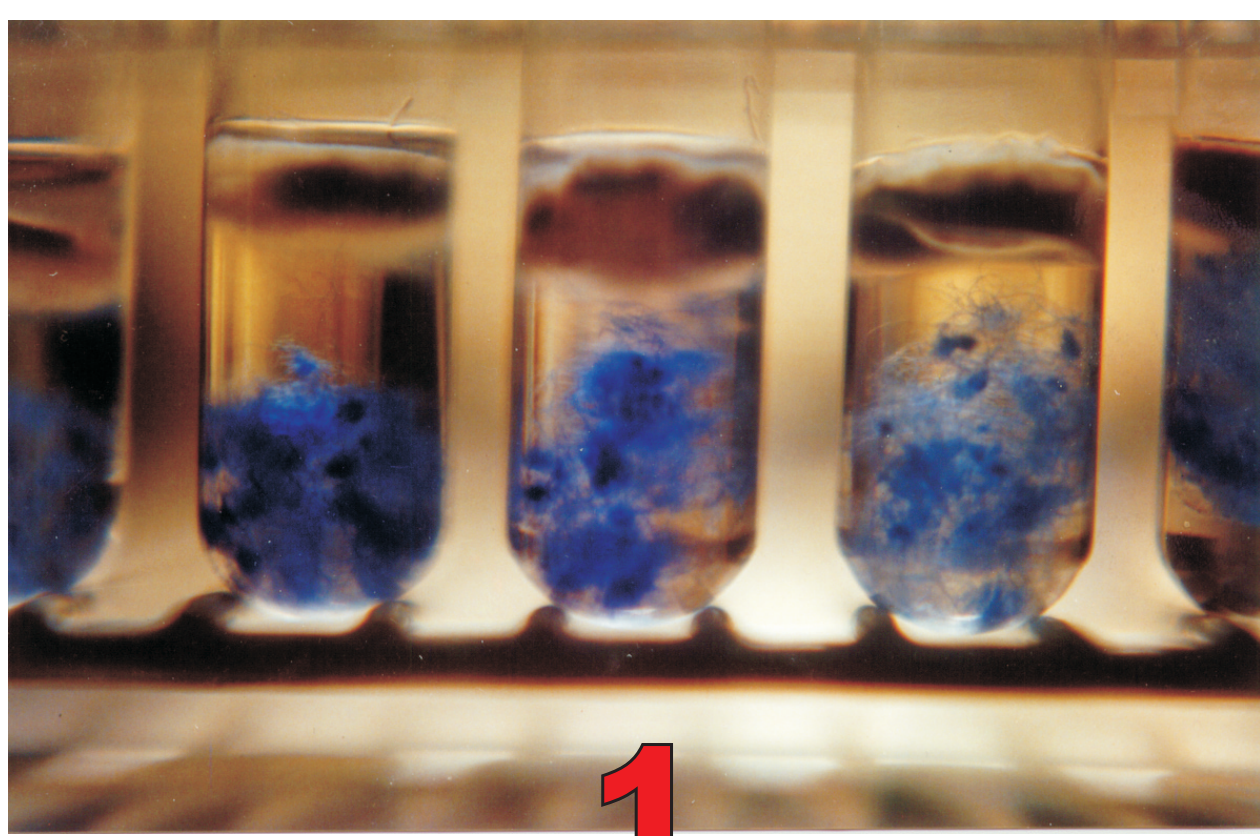
- Aislar e identificar hongos del suelo con capacidad para degradar el residuo pelo vacuno.
- Lograr la expresión de la actividad proteolítica- queratinolítica de los hongos.
- Cuantificar la actividad enzimática mediante el empleo de sustratos de base queratina y colagénica.

## MATERIALES Y METODOS

-Aislamiento : Se procedió al aislamiento de los hongos mediante el "metodo del anzuelo", utilizando tierra no estéril de hábitat de bóvidos del Zoológico y de la facultad de Ciencias Veterinarias de La Plata. La identificación de las cepas se llevó a cabo mediante macro y micromorfología y pruebas bioquímicas .  
-Expresión enzimática: se llevó a cabo cultivando las cepas en a). Medio líquido, con y sin agitación:

- 1).Medio Mineral Mínimo, sin fuente de carbono y nitrógenoa PH=7,4 .
- 2).Medio Mínimo con peptona y tiamina, PH=7,2  
b). Medio sólido, en placa de Petri:1).Medio mínimo, sin fuente de carbono y nitrógeno, PH=7,4

Los sustratos utilizados en el cultivo fueron: 1).Pelo humano estéril,, 2). "Residuo pelo"estéril y 3), Azul de queratina (foto 1 ).



- 1). Medio Mineral Mínimo, sin fuente de carbono y nitrógenoa PH=7,4 .
- 2). Medio Mínimo con peptona y tiamina, PH=7,2
- 3). Medio mínimo, sin fuente de carbono y nitrógeno, PH=7,4

Los sustratos utilizados en el cultivo fueron: 1).Pelo humano estéril,, 2). "Residuo pelo"estéril y 3), Azul de queratina (foto 1 ).

Las cepas utilizadas fueron :

Trichophyton ajelloi, Microsporium gypseum y Fusarium oxysporum, aisladas del suelo. Aspergillus versicolor y Scopulariopsis brevicaulis aislados de onicomicosis humanas. Trichophyton mentagrophytes (como control positivo de ataque al pelo) Cladosporium sphaerospermun ( como control negativo de ataque al pelo).(fotos 2 a 6).

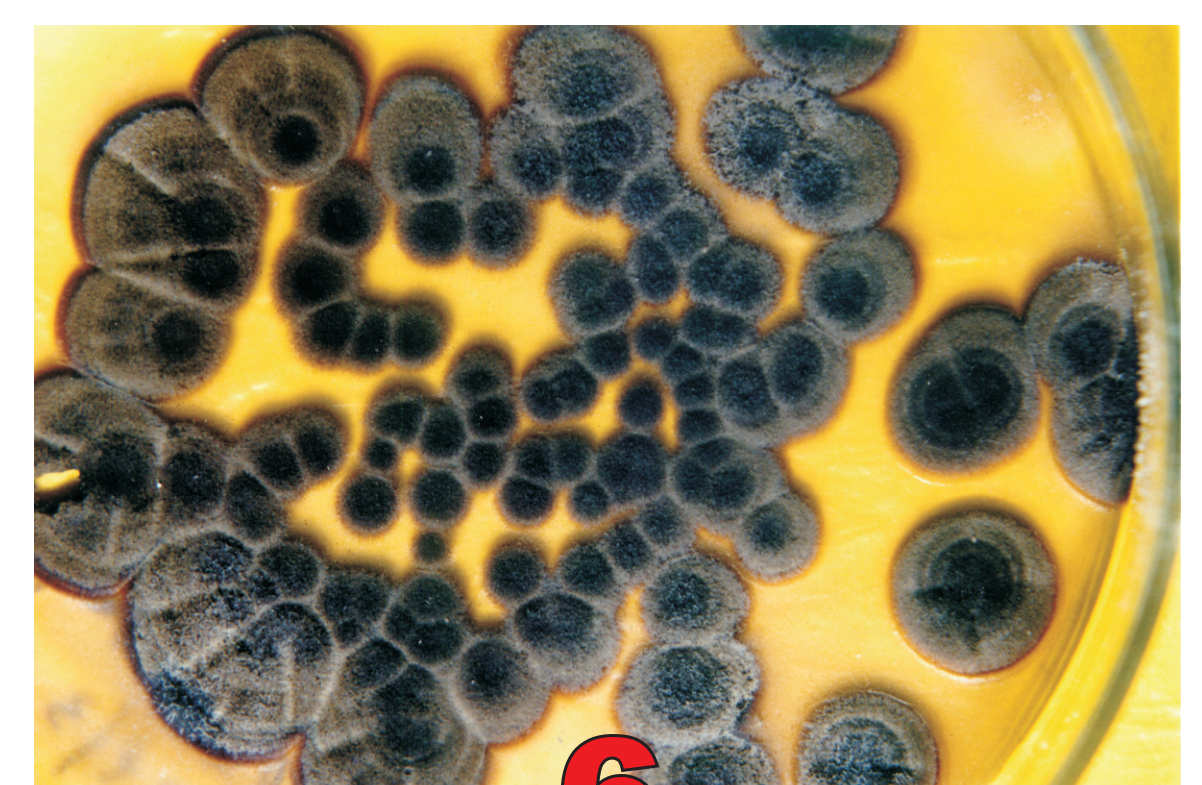
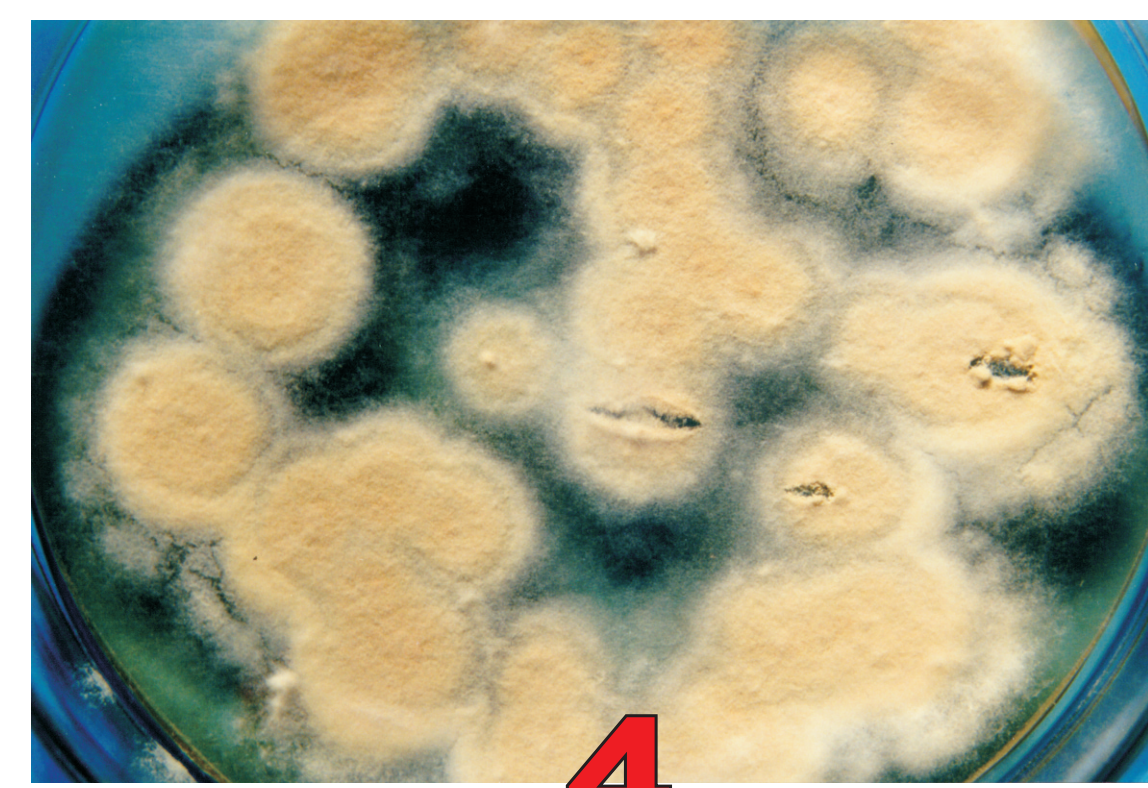
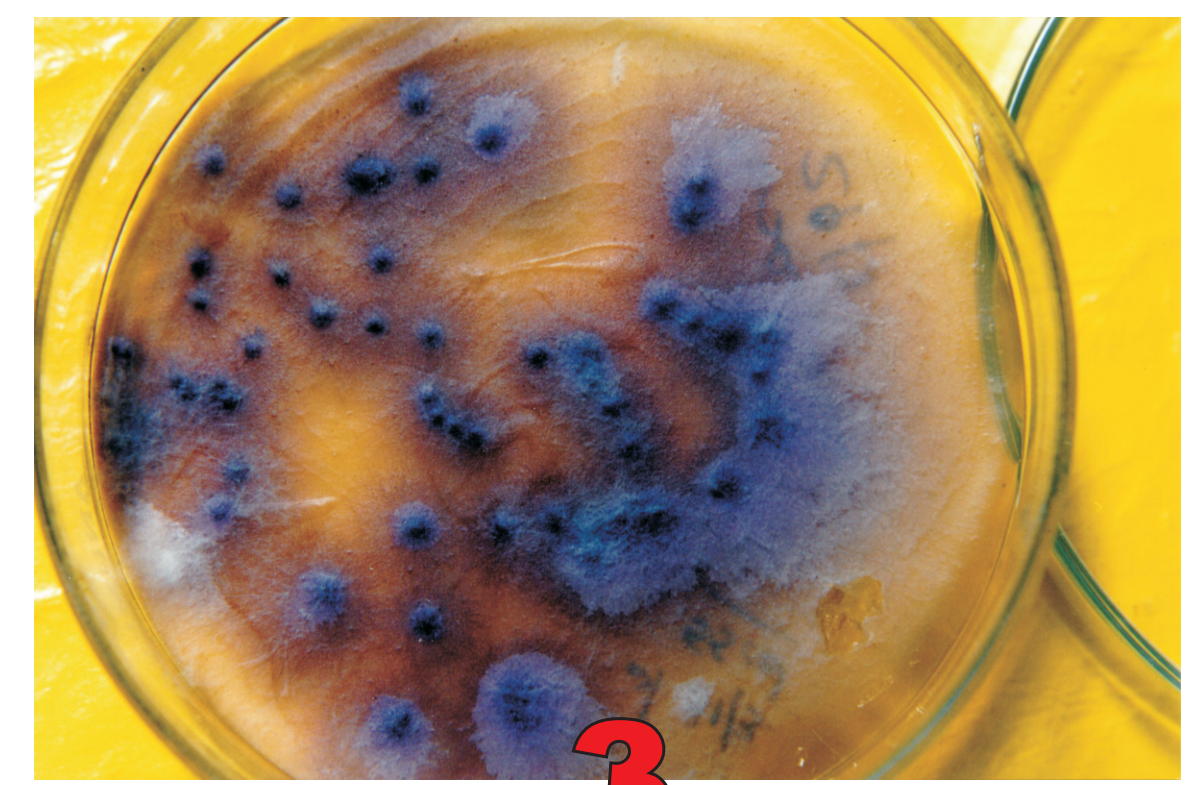
Preparación del inóculo:

El inóculo fúngico utilizado correspondió al orden de  $10^6$  ufc/ml ajustado turbidimétricamente con el tubo nº3 de Mac Farland, por fotocolorimetría y cuantificado por Recuento de viables. El tiempo de incubación de los hongos y sus respectivos sustratos osciló entre 15 y 30 días a una temperatura de 28°C en todos los casos.

Se separó el sobrenadante (extracto crudo), por filtrado a través de membrana de celulosa de poro 0,45 um, y se conservó en freezer a 4°C, para su posterior estudio.

Medidas de actividades enzimáticas: la actividad de las proteasas fúngicas se realizaron mediante técnicas adaptadas en el Citec( vease Poster) frente a azul de queratina (KA), Hide Power Azur (HPA) y caseína.

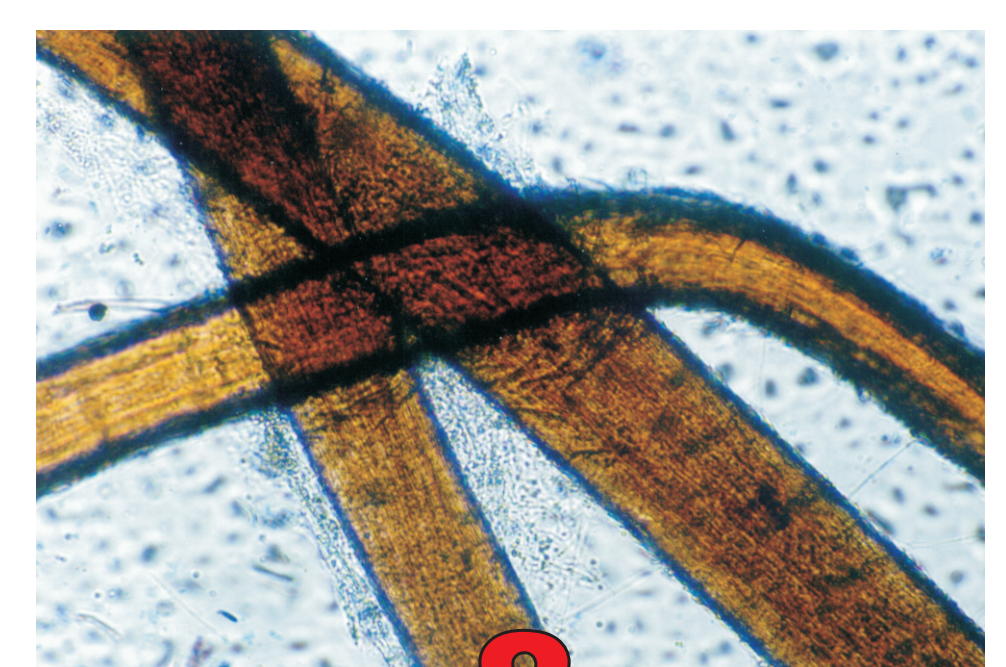
La concentración proteica fue medida con el Método de Lowry.



Medidas de actividades enzimáticas: la actividad de las proteasas fúngicas se realizaron mediante técnicas adaptadas en el Citec frente a azul de queratina (KA), Hide Power Azur (HPA) y caseína. La concentración proteica fue medida con el Método de Lowry.

## RESULTADOS

En la observación microscópica de los diferentes cultivos, se distinguió (foto7 y 8) la presencia de micelio y conidios fúngicos creciendo alrededor del sustrato queratínico y su degradación parcial.



## Con respecto a las actividades de las proteasas fúngicas se otuvieron los siguientes valores:

### EXPERIENCIA CON MEDIO PEPTONA EN EL CULTIVO CON "RESIDUO PELO"

	Unidades HPA	Unidades KA
Scopulariopsis brevicaulis	145	5
Fusarium oxysporum	60	4
Trichophyton ajelloi	8	1
Microsporium gypseum	8	3

### EXPERIENCIA CON MEDIO MINERAL MÍNIMO LÍQUIDO CON "RESIDUO PELO"

	Absorb595nm	UnidadesHPA	UnidadesKA	Unidades caseinolíticas	unidades HPA Especificas	prot (mg/ml)
Fusarium oxysporum	0,199	400	0,7	12,6	400	1,00
Scopulariopsis brevicaulis	0,178	205	0,7	8,3	277	0,74
Aspergillus versicolor	0,208	76	0,4	2,3	253	0,30
Trichophyton mentagrophytes	0,287	105	0,5	2,3	131	0,80
Cladosporium sphaerospermun	0,213	20	0,3	5,7	25	0,80

### EXPERIENCIA CON MEDIO MINERAL MÍNIMO EN PLACA CON "RESIDUO PELO"

	Abs.595nm	Proteinas (mg/ml)
Fusarium oxysporum	0,092	0,08
Scopulariopsis brevicaulis	0,058	0,04
Aspergillus versicolor	0,069	0,03
Trichophyton mentagrophytes	0,112	0,12
Cladosporium sphaerospermun	0,038	0,01

## DISCUSION

- Se logró comprobar la actividad queratinolítica de las cepas aisladas.
- De las cepas aisladas e identificadas como Fusarium oxysporum, Microsporium gypseum, Trichophyton ajelloi, la Fusarium oxysporum es la de mayor actividad enzimática sobre el sustrato colagénico HPA.
- Scopulariopsis brevicaulis, de origen clínico, demostró en todas las condiciones de cultivo ser la mas activa de todas las cepas frente a Azul de queratina y a Hide Power Azur.
- Comparando los valores de proteínas totales y de absorbancia a 595nm, de los extractos crudos de las cepas utilizadas, se observó que, en medio líquido, se expresa en general una mayor producción de enzimas.