

## **Extracción de proteína de residuos de piel curtida al cromo a través del enzima *Bacillus subtilis***

Aline Dettmer<sup>1</sup>, Rose Mary Oliveira dos Santos<sup>2</sup>, Patrícia Schacker dos Anjos<sup>3</sup>, Mariliz Gutterres<sup>3</sup>

1 Graduate Program in Engineering and Process Technology, University of Caxias do Sul, Francisco Getúlio Vargas Str., 1130, 95070-560, Caxias do Sul, RS, Brazil. Phone: +55 51 3218 2100 R.2689, e-mail:alinedettmer@gmail.com

2 Chemical Engineering Course, University of Caxias do Sul, Francisco Getúlio Vargas Str., 1130, 95070-560, Caxias do Sul, RS, Brazil. Phone: +55 51 3218 2100 R.2689, e-mail:rmosanto@ucs.br

3 Chemical Engineering Department, Federal University of "Rio Grande do Sul", Luiz Englert str., s/n°, 90.040-040, Porto Alegre, RS, Brazil. Phone: +55 51 3308 3954; Fax: +55 51 3308 3277, e-mail: mariliz@enq.ufrgs.br, patischacker@gmail.com

### **RESUMEN**

La industria del cuero se está enfrentando a nuevos retos y a la necesidad de mejorar y optimizar los procesos de producción para conseguir la calidad requerida en sus artículos finales, además de cumplir con la legislación ambiental. De cada tonelada de pieles en bruto, se puede estimar que alrededor del 20% se transforma en residuos de piel curtidos al cromo. El tratamiento enzimático de los residuos de piel curtida al cromo es una tecnología prometedora. En este trabajo se describe la extracción de proteínas a partir de residuos de piel curtida al cromo a través del uso de extractos en bruto de enzimas de cultivos de dos nuevas cepas de *Bacillus subtilis*. Se utiliza el lodo aeróbico de una empresa de curtidos como fuente de la comunidad microbiana para el cribado y la selección de microorganismos. Los residuos de piel curtidos son tratados con álcali y luego con el extracto enzimático en bruto. Este proceso permite obtener gelatina e hidrolizado proteico, que pueden aplicarse en la producción de fertilizantes, agentes de recurtición de la piel y en la industria cosmética, y también se obtiene un lodo concentrado de cromo, del cual puede recuperarse el cromo y reutilizarse en la curtición de la piel. Por lo tanto, esta es una alternativa segura para el tratamiento y reutilización de los residuos de cuero curtidos al cromo.

**Keywords:** enzimas, hidrólisis, reutilización, residuos

### **1. INTRODUCCIÓN**

La reducción en la generación de residuos y en la gestión de éstos a través de los vertederos son algunos de los desafíos actuales de la industria del cuero. La demanda de productos de piel está aumentando a nivel mundial con un rápido crecimiento de la población mundial en el siglo pasado, por lo tanto, también han aumentado los residuos generados de piel en bruto y piel manufacturada. Según el Centro de la Industria de la Curtición en Brasil (Centro de la Industria de la Curtición en Brasil, 2012), en los inicios de 2012, Brasil exportó 36,9 toneladas de piel bovina y ovina en bruto al mes.

El método de curtición de uso más frecuente es el tratamiento con sales de cromo, del cual puede estimarse que alrededor de 700 kg de residuos (curtidos y sin curtir) son generados por tonelada de piel en bruto procesada. Del total de residuos generados, aproximadamente 210 kg son residuos curtidos y el producto acabado constituye sólo alrededor del 26% del peso de la piel en bruto inicial (Instituto de Ingeniería y Tecnología Industrial, 2000).

Entre los residuos sólidos de fabricación de piel curtida al cromo, los recortes y las rebajaduras producidas durante el ajuste del grosor de la piel son el principal problema debido a la gran cantidad de residuos generados y los altos niveles de cromo que contienen, por lo que son clasificados como residuos peligrosos de acuerdo con la ABNT NBR 10004:2004 (Leyes Brasileñas). Por lo tanto, estos residuos se deben almacenar en vertederos construidos especialmente para los

residuos industriales peligrosos; por lo que se han estudiado muchas alternativas para su tratamiento y reutilización (Dettmer et al. 2010a, b, c; Catalina et al., 2010; Piccin et al., 2012; Ocak et al. 2011; Matyasovsky et al., 2011) . Las rebajaduras generadas en el proceso de ajuste del grosor de la piel wet-blue representan el 90 % de los residuos sólidos generados en el proceso de curtición al cromo. El rebajado de la piel produce un promedio de 4,5 kg de virutas por cada piel en bruto (Daut et al. 2007).

La hidrólisis de residuos en medio acuoso es una alternativa para la reutilización de los recortes y las rebajaduras, ya que no necesita de alta tecnología o de grandes inversiones (Ribeiro, 2003). La hidrólisis se puede definir como una ruptura de las cadenas de polipéptidos en fragmentos peptídicos pequeños o aminoácidos que puede lograrse mediante el calentamiento de la proteína en soluciones ácidas o alcalinas. Según IULTCS (2012), el proceso de hidrólisis de los residuos puede llevarse a cabo por: proceso químico (ácido o alcalino) y por el proceso enzimático.

En el proceso de hidrólisis química, los procesos ácidos y alcalinos tienen una cosa en común: las fases ricas en proteínas pueden utilizarse en alimentación animal o en formulaciones de fertilizantes, debido a la proteína de bajo peso molecular obtenida a través de estos procesos (Taylor 1993). En el proceso de hidrólisis alcalina se puede utilizar: óxido de calcio, hidróxido de calcio, óxido de magnesio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio. La temperatura es una variable importante en el proceso, ya que a temperaturas más altas la cinética de reacción se ve favorecida, pero a temperaturas alrededor de 80 a 90 °C, la precipitación y filtración del cromo son mejores. La elección del reactivo que se usa depende del producto final a obtener: gelatina, cola, proteínas, alimentos para animales, además de otros auxiliares de curtición,; como cemento, yeso, y componentes de la cerámica (Gutterres 2008). Varios autores dedican sus investigaciones a la hidrólisis química y enzimática del cuero curtido al cromo: Taylor et al., 1990; 1991; 1992; 1998a, b; Amaral 2008 ; Gutterres et al., 2010; Liu et al., 2012; Aslan et al., 2006) .

La digestión enzimática de las rebajaduras curtidas al cromo da como resultado un hidrolizado de proteínas y gelatina de alta

calidad , además de un lodo de cromo. El hidrolizado puede utilizarse en formulaciones de agentes de recurtición, como estabilizantes de la espuma, en la industria de yeso y en los aglomerados. El lodo de cromo puede ser reutilizado en la producción de sulfato de cromo (IULTCS , 2012).

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la eficiencia de la extracción de proteínas a través de la hidrólisis química y enzimática de los residuos sólidos generados durante el ajuste del espesor de la piel en el proceso de rebajado. Además, se analiza la composición de los productos específicos y los subproductos obtenidos después del tratamiento y su posible utilización en otras industrias.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Metodologías Analíticas

Los residuos sólidos de piel curtidos al cromo utilizados en el estudio fueron proporcionados por una curtiduría local. Esto se caracterizaron mediante los siguientes parámetros: pH, humedad, cenizas, cromo total y el nitrógeno total Kjeldhal (NTK). Los valores del pH de las muestras se determinaron de acuerdo con la norma ASTM D 2810-72:1996. Se pesaron por triplicado unos 5 g de residuos sólidos y se añadieron 100 ml de agua destilada, las soluciones se sometieron a un proceso de agitación durante 24 horas, posteriormente se filtró la solución y se midió el pH de las soluciones por potenciometría.

La humedad fue determinada de acuerdo con la norma ABNT NBR 11029:2012; en la que se pesaron 3 g de los residuos sólidos en crisoles secos y tarados. Las muestras se calentaron a  $102 \pm 2$  °C hasta peso constante, durante 12h aproximadamente.

El contenido en cenizas se determinó por triplicado, pesando 3 g de residuos sólidos en crisoles de porcelana previamente tarados. Las muestras se calentaron a 600 °C hasta peso constante, según la norma ASTM D2617:1969. Para la determinación del contenido en cromo total de los residuos sólidos y los productos de hidrólisis (torta y líquidos), las muestras fueron analizadas por espectrometría de absorción atómica según Standard Methods (2012). En el tratamiento de los residuos sólidos de cromo y

la torta obtenida después del proceso de hidrólisis, era necesario aplicar una digestión ácida de acuerdo con la norma ASTM D6656: 2001. Para la determinación del contenido en cromo total del producto líquido de hidrólisis, la digestión ácida no fue necesaria.

Con el fin de determinar el contenido en proteína de los productos de hidrólisis y subproductos se realizaron los análisis de contenido de NTK, ejecutado de acuerdo con la norma ASTM D2868-96.

## 2.2 Hidrólisis Química

Previo al tratamiento de hidrólisis enzimática, los residuos sólidos cromados fueron sometidos a un proceso de hidrólisis química alcalina; en esta fase el objetivo consistía en determinar el mejor agente químico para la extracción de la proteína de forma previa a la hidrólisis enzimática. Las metodologías utilizadas se basaron en el trabajo realizado por Brown et al. (1998).

Los procesos de hidrólisis química alcalina se realizaron por duplicado y se utilizaron dos bases; una solución de hidróxido de sodio (NaOH, 0,1 M) y otra de óxido de magnesio. Para llevar a cabo la hidrólisis alcalina se pesaron 50 g de residuos sólidos curtidos al cromo y se añadieron 250 ml de agua destilada. Posteriormente, se añadió la solución alcalina / reactivo hasta que las muestras alcanzaron valores de pH alrededor de  $9,0 \pm 0,5$ , donde se necesitaron aproximadamente 220 ml de solución de NaOH y 2 g de óxido de magnesio aproximadamente. Las muestras se mantuvieron bajo agitación a 60 rpm y 70 °C durante 15 horas. A continuación, las muestras se filtraron usando un embudo Buchner, separando la fase sólida y la líquida; y analizando de cada una el contenido en cromo y el NTK.

## 2.3 Hidrólisis Química y Enzimática

Los ensayos de hidrólisis enzimática se llevaron a cabo mediante dos extractos en bruto de enzimas proteolíticas (A y B), obtenidos a partir del cultivo de dos nuevas cepas de *Bacillus subtilis*, previamente caracterizados por Dettmer (2012a, b, c).

a) enzima A : obtenido por el cultivo de *Bacillus subtilis* Blbc 11, de actividad colagenolítica de 61,33 U/ml, valor de pH 9 para la máxima actividad, térmicamente estable cuando se expone durante 2 horas a

45°C, con actividad proteolítica de 130,5 U/ml;

b) enzima B : obtenido por cultivo de *Bacillus subtilis* Blbc 17, de actividad colagenolítica de 135,70 U/ml, valor de pH 10 para la máxima actividad, térmicamente estable cuando se expone durante 2 horas a 45°C, con actividad proteolítica de 133,6 U/ml.

El proceso de hidrólisis química y enzimática consistió en dos etapas: una hidrólisis química alcalina, con el objetivo de obtener gelatina (colágeno) y la etapa de hidrólisis enzimática; donde se obtuvieron los aminoácidos y la torta de cromo.

En la primera etapa, se pesaron por cuadruplicado 50 g de residuos sólidos curtidos al cromo y se añadieron 250 ml de agua destilada; posteriormente se añadió óxido de magnesio hasta que el pH de la solución alcanzó un valor de  $9,0 \pm 0,5$ . Las muestras se mantuvieron bajo agitación de 60 rpm y 70 °C durante un período de 6 horas. Después de este período, las muestras se filtraron al vacío, separando las fases sólida y líquida y se analizó su contenido en cromo y NTK.

En la segunda etapa, se trabajó con la torta de cromo obtenida en la primera etapa. Antes de la hidrólisis enzimática fue necesario ajustar el pH del medio, para conseguir una mejor acción enzimática. Para la enzima A, el valor de pH se ajustó a 9,0 y para la enzima B, el valor de pH se ajustó a 10,0. Siguiendo el trabajo de Dettmer et al. (2012a, b, c) se utilizaron 300 U de actividad enzimática / g de residuos sólidos. Se añadieron alrededor de 115 ml de extracto enzimático en bruto de las enzimas A y B, las muestras se mantuvieron a 45 °C y agitación de 60 rpm durante 15 h. Posteriormente, las muestras se sometieron a un proceso de filtración; separando la fase sólida de la líquida y se evaluó de ambas su contenido en cromo y NTK.

## 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Caracterización de los residuos sólidos curtidos al cromo

Los resultados de la caracterización de los residuos sólidos curtidos al cromo se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1 – Caracterización de los residuos sólidos curtidos al cromo.

Parámetro	Resultados
Cr total	2,74 %
Humedad	53,58 ± 0,2 %
pH	3,34
Cenizas (s.p.s)*	7,38 ± 0,5 %
NTK (s.p.s)*	14,47 ± 3,3 %

Notas: \*s.p.s= sobre peso seco; los valores corresponden a los valores medios ± desviación standard de tres muestras.

De acuerdo con los resultados presentados en la Tabla 1, se puede observar que los valores de la humedad, el NTK y el cromo son cercanos a los valores presentados por otros autores. En el valor obtenido de contenido en cenizas, que caracteriza la muestra en relación con su contenido en sales determinando la cantidad de material inorgánico no volátil; existe una variación con respecto a algunos de los resultados de la literatura (Silva, 2008), esto es debido a que el contenido en cenizas varía según la naturaleza de la muestra y el proceso de curtiembre aplicado.

### 3.2 Hidrólisis Química

En esta fase del experimento se trató de obtener una comparación entre la acción de dos álcalis en la extracción de la proteína. Los álcalis elegidos fueron el hidróxido de sodio y el óxido de magnesio. La Figura 1 presenta los productos obtenidos en la hidrólisis alcalina.

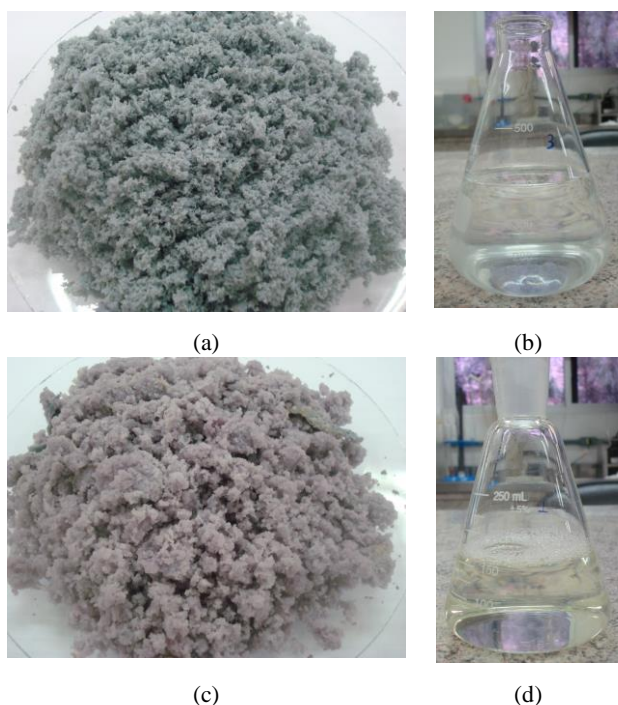


Figura 1 – Productos obtenidos en los procesos de hidrólisis alcalinas (a) torta de cromo y (b) gelatina

obtenida mediante el uso de NaOH 0.1M, (c) torta de cromo y (d) gelatina obtenida mediante el uso del MgO.

Los productos obtenidos en la hidrólisis básica usando solución de NaOH 0,1 M mostraron un aspecto distinto respecto a los productos de hidrólisis obtenidos utilizando óxido de magnesio. En la hidrólisis mediante óxido de magnesio, se observó la formación de un líquido gelatinoso, ligeramente amarillento, donde la coloración amarilla del mismo es característica del colágeno, pero también puede ser causada por la oxidación del Cr 3 + a Cr 6 +, de acuerdo con Dexheimer (2006) esta oxidación puede producirse debido a los altos valores de pH. En las condiciones utilizadas en este trabajo la posibilidad de oxidación es remota, debido a que el pH utilizado no es extremadamente alto y las temperaturas utilizadas fueron moderadas. El líquido obtenido por hidrólisis con NaOH 0,1M no mostró ningún aspecto gelatinoso, hecho que indica que no se produjo la solubilización de las proteínas. Los resultados obtenidos en la hidrólisis alcalina se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2 - Resultados de los análisis del cromo y NTK después de la hidrólisis alcalina (valor medio de duplicado).

Parámetro	NaOH 0,1M		MgO	
	Sólido	Líquido	Sólido	Líquido
Cromo total	2,76 %	0,396 mg/l	2,99 %	0,133 mg/l
TKN	15,46 %	0 %	12,27 %	0,35 %

A través de los resultados indicados en la Tabla 2 es posible observar que la extracción con solución de NaOH no fue eficaz porque no hay NTK en el material líquido. El método de hidrólisis con óxido de magnesio es más eficiente, ya que se produce la solubilización de la proteína, y los valores de NTK determinados sobre el producto líquido fueron satisfactorios si se compara con los resultados obtenidos en el estudio de Brown et al. (2012), el cual presenta un valor de 11 mg de NTK/l ó 0,00011%.

Los valores medios de contenido en cromo del líquido, usando óxido de magnesio para la extracción, fueron relativamente bajos. Sin embargo, dado que el producto presentaba una cierta cantidad de cromo, éste no se puede utilizar como suplemento en alimentación animal, de acuerdo con la ordenanza n° 55.871 de 26 de marzo 1965 ( Ley de Brasil ),

en relación con las normas que rigen el uso de los aditivos alimentarios, que regula el valor máximo permisible de cromo en 0,10 mg/l. Los productos obtenidos pueden utilizarse como fertilizante en el suelo. La torta que contiene cromo puede someterse a un proceso de recuperación de cromo y por lo tanto, el cromo puede utilizarse de nuevo en la curtición de pieles.

El proceso de hidrólisis alcalina utilizando óxido de magnesio es más eficiente, por lo que este reactivo es el elegido para llevar a cabo el proceso de hidrólisis enzimática.

### 3.3 Hidrólisis Química y Enzimática

Para aumentar el grado de extracción de proteínas, se utilizan las enzimas proteolíticas A y B. Los productos obtenidos por ambos procesos de hidrólisis enzimática mostraron apariencia similar. Los líquidos obtenidos en la primera etapa (de reacción con el óxido de magnesio) mostraron aspecto gelatinoso; los líquidos obtenidos en la segunda etapa (de reacción con las enzimas proteolíticas) no mostraron aspecto de gelatina formada por aminoácidos formados por cadenas más pequeñas. La Figura 2 presenta los productos obtenidos en la hidrólisis enzimática.

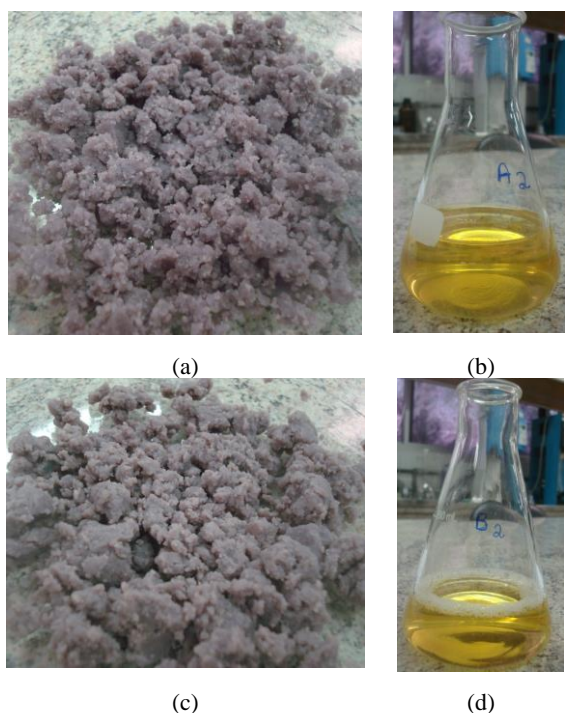


Figura 2 – Productos de la hidrólisis enzimática (a) torta de cromo y (b) aminoácidos obtenidos mediante el uso de la enzima A, (c) torta de cromo y (d) aminoácidos obtenidos mediante el uso de la enzima B

La Tabla 3 presenta los resultados de la concentración de cromo y el valor de NTK en el proceso de hidrólisis química con MgO (primera fase) e hidrólisis enzimática (segunda fase).

Tabla 3 - Resultados del análisis del cromo y el NTK en las hidrólisis química y enzimática (valor medio de duplicado)

Parámetro	Hidrólisis Química		Hidrólisis Enzimática			
	MgO		Enzima A		Enzima B	
	Sólido	Líquido	Sólido	Líquido	Sólido	Líquido
Cromo total	2,78 %	0 %	3,66 %	0,171 mg/L	3,82 %	0,359 mg/L
NTK	13,07 %	0,26 %	6,88 %	0,85 %	5,55 %	0,86 %

Como se puede observar en la Tabla 3, en la primera fase se obtuvo un líquido sin cromo (hidrólisis química), que muestra que no se ha producido solubilización del cromo en el líquido. El proceso de hidrólisis mediante un tiempo de extracción de 6 horas fue más eficiente si se compara con los valores determinados en el proceso de hidrólisis con un tiempo de extracción de 15 horas. La aplicación de un mayor tiempo de extracción dio como resultado un aumento de la solubilización del cromo, tal y como se muestra en la Tabla 2 .

Debido al contenido en NTK y la ausencia de cromo, el producto líquido obtenido en la primera fase puede ser utilizado para la fabricación de suplementos de alimentación animal y también como gelatina, siendo los resultados obtenidos en este trabajo similares a los valores determinados por Amaral (2008) que mostró unos valores de 0,31% de NTK y ausencia de cromo.

Los resultados obtenidos en la segunda etapa (hidrólisis enzimática) demuestran la eficacia de la acción enzimática, ya que se observa la solubilización en el líquido de la proteína contenida en la torta de cromo.

Los resultados de este estudio son similares a los resultados presentados por Brown et al. (1996), donde los autores sugieren que la torta de cromo obtenida en el proceso de hidrólisis puede tratarse químicamente para producir productos de recurtición de cuero al cromo, otra posibilidad sería utilizar el cromo recuperado en la industria del cemento. El líquido obtenido en el proceso de hidrólisis puede ser utilizado como un ingrediente en

# TOGETHER WE ARE STAHL

Now Clariant's Leather Business is part of Stahl. Together we will offer an increased level of service to the leather and performance coatings industries. As of now Stahl will cover the whole leather processing chain. Our expanded market coverage will result in clear advantages such as more innovation, greater expertise in sustainability and the best in class technical service. **Today we combine all our talents, our skills, our ideas and our passion. We are Stahl.**



## WORLDWIDE COVERAGE

- 1 HQ
- 11 PLANTS
- 42 APPLICATION LABS / SALES OFFICES
- 1800+ EMPLOYEES

**HQ** Headquarters Stahl  
Waalwijk, Netherlands



fertilizantes. Se puede observar que el líquido extraído en la hidrólisis realizada mediante la enzima A tiene un contenido inferior en cromo.

El aumento en el contenido de cromo de la torta es debido a la solubilización de la proteína de los residuos sólidos hacia el líquido y la consiguiente disminución de la masa. En la concentración de NTK ambos productos de hidrólisis presentaron niveles similares. Por lo tanto, el proceso de hidrólisis utilizando la enzima A fue más eficiente porque había una mejor separación de la proteína y el cromo.

#### 4. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en las hidrólisis química y enzimática, se puede concluir que la hidrólisis alcalina con óxido de magnesio es más eficiente y solubiliza más proteínas. Los valores de NTK que se determinan en el producto líquido fueron satisfactorios en el proceso de hidrólisis con óxido de magnesio, pero mostraron una cantidad de cromo por encima del máximo permitido para ser utilizado como aditivo alimentario; por lo que dichos productos no pueden usarse como suplemento en la alimentación animal, pero pueden usarse como fertilizantes del suelo.

#### 6. REFERENCIAS

- Amaral, L. A., 2008, Alternatives for chrome tanned leather waste treatment: enzymatic hydrolysis and bacterial action. Master Thesis, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- American Society for Testing and Materials, 1996, ASTM D2810-72: Standard test method for pH of leather. Philadelphia.
- American Society for Testing and Materials, 1969, ASTM D2617: Standard test method for total ash in leather. Philadelphia.
- American Society for Testing and Materials, 2001, ASTM D6656: Standard test method for determination of chromic oxide in wet blue. Philadelphia.
- American Society for Testing and Materials. 1996, ASTM D2868: Standard test method for Nitrogen content (kjeldahl) and hide substance content of leather. Philadelphia.
- Aslan, A., Gülümser, G., Ocak, B., 2006, Increased Chromium Tanning Efficiency with Collagen Hydrolysates. JSLTC, 90, 201-204.
- Brazilian Association of Technical Standards, 2012, NBR 11029: Hides and Leather – Determination of moisture. Rio de Janeiro.
- Brazilian Association of Technical Standards, 2004. NBR 10.004: Solid Wastes – Classification. Rio de Janeiro, in Portuguese.
- Brazilian Association of Technical Standards, 2012, NBR 11029: Hides and Leather – Determination of moisture. Rio de Janeiro.
- Brazil. Ordinance nº 55.871, march 1965. Regarding rules governing the use of feed additives. Official Journal of the Union, Brasília, DF, March, 26, 1965. 3612-3622.
- Brown, E. M.; Taylor, M. M.; Marmer, W. N., 1996, Production and potential uses of co-products from solid tannery waste. JALCA, 91, 270-275.

En la primera fase de la hidrólisis química y enzimática, el producto líquido obtenido no muestra presencia de cromo debido a un tiempo más corto de extracción; por lo que dicho producto puede utilizarse en la producción de suplementos de alimentación animal y también como gelatina. Mediante el uso de la Enzima B se obtuvieron mejores resultados en la solubilización de las proteínas, pero también hubo una mayor solubilización de cromo en el líquido. La torta de cromo obtenida en el proceso de hidrólisis se puede utilizar como producto de recurtición al cromo, y también en la industria del cemento; y el líquido obtenido se puede utilizar como un ingrediente para fertilizantes.

La mejor opción es la hidrólisis química y enzimática, utilizando MgO seguido de un proceso de hidrólisis enzimática, ya que así se puede transformar un residuo peligroso en productos de valor añadido y reducir la cantidad de residuos depositados en los vertederos.

#### 5. AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a la agencia brasileña FAPERGS por su apoyo financiero para la investigación el desarrollo científicos.

- Catalina, M., Attenburrow, J.C., Covington, A.D., Antunes, A.P.M., 2010, Application of Gelatin Extracted from Chrome Shavings for the Glazed Finishing of Leather. *JALCA*, 105, 138-144.
- Center for the Brazilian Tanning Industry, 2012, Analysis of Brazilian exports of hides and leather. Available in: <<http://www.brazilianleather.com.br>, access Set. 6.
- Daut, R. H. S.; Grusznski C.; Kampf, A. N., 2007, Use of wet-blue waste leather as substrate component for plants. *Rural Science*, Santa Maria, 37, 91-96.
- Dettmer, A., Nunes, K.G.P., Gutterres, M., Marcílio, N.R., 2010a, Obtaining Sodium Chromate from Ash Produced by Thermal Treatment of Leather Wastes, *Chem. Eng. J.* 160, 8-12.
- Dettmer, A., Nunes, K.G.P., Gutterres, M., Marcílio, N.R., 2010b, Production of Basic Chromium Sulfate by Using Recovered Chromium from Ashes of Thermally Treated Leather *J. Hazard. Mater.* 176, 710-714.
- Dettmer, A., Marcílio, N.R., Gutterres, M., Nunes, K.G.P., 2010c, Tanning Using Basic Chrome Sulfate Obtained from Ash Produced in the Thermal Treatment of Leather Wastes. *JALCA* 105, 280-288.
- Dettmer, A.; Coelho C., J.; Cavalli, É.; Misturini, R. D.; Gusatti, C.; Záchia A., M. A.; Gutterres, M., 2012A Optimization of the Biotechnological Process for Hide Unhairing in Substitution of Toxic Sulfides. *Chemical Engineering & Technology*, 35, 803-810.
- Dettmer, A.; Cavalli, É.; Ayub, M. A. Z.; Gutterres, M., 2012b, Optimization of the unhairing leather processing with enzymes and the evaluation of inter-fibrillary proteins removal: an environment-friendly alternative. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 35, 1317.
- Dettmer, A.; Cavalli, É.; Ayub, M. A.Z.; Gutterres, M., 2012c, Environmentally friendly hide unhairing: Enzymatic hide processing for the replacement of sodium sulfide and delimid. *Journal of Cleaner Production*. DOI:10.1016/j.jclepro.2012.04.024.
- Dexheimer, M. A., 2006, Risks of hexavalent chromium in leather. *Leather Magazine*, 186, 102-104.
- Gutterres, M. 2008. *Science for Leather Technology*. 1ed., Tríplice, Porto Alegre.
- Gutterres, M; Dettmer, A.; Amaral, L.; Souza, M.; Souza, F.R., 2010, Aplicaciones de la biotecnología en la piel. *Leder Piel*, 80, 36-42.
- Industrial Engineering and Technology Institute, 2000, *Technical Guide for Tanneries*. Lisboa: PNAPRI, p. 102, in Portuguese.
- International Union of Leather Technologists and Chemists Societies, 2012, Recommendations for tannery solid by-product management. Available in: [http://www.iultcs.org/pdf/IUE2\\_2008.pdf](http://www.iultcs.org/pdf/IUE2_2008.pdf), access Set. 2, 2012.
- Liu, L., Liu, Q., Li, J., Du, G., Chen, J., 2012, Characterization of Gelatin and Casein Films Modified by Microbial Transglutaminase and the Application as Coating Agents in Leather Finishing. *JALCA*, 107, 13-20.
- Matyasovsky, J., Sedliacik, J., Jurkovic, P., Kopny, J., Duchovic, P., 2011, De-Chroming of Chromium Shavings without Oxidation to Hazardous Cr<sup>6+</sup>. *JALCA*, 106, 8-17.
- Ocak, B., Aslan, A., Gülümser, G., 2011, Utilization of Chromium-Tanned Leather Solid Wastes in Microencapsulation. *JALCA*, 106, 232-238.
- Piccin, J. S., Gutterres, M., Gomes, C., Feris, L.A., 2012, Kinetic and Isotherms of Leather Dyes Adsorption by Tannery Solid Waste. *Chem. Eng. J.* 183, 30-38.
- Ribeiro, K. C. R., 2003, Hydrolysis of chromium tanned wastes. Master Thesis, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Silva, I. V., 2008, Utilization of leather proteic hydrolysis for retanning. Master Thesis, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Taylor, M. M., 1993, Effect of processing variables on ash content of gelable and hydrolyzed protein products isolated from treatment of chromium leather waste. *JALCA*, 88, 358-367.
- Taylor, M. M.; Diefendore, E. J.; Na, G. C., 1990, Enzymatic treatment of chrome shavings. *JALCA*, 85, 264-275.
- Taylor, M. M.; Diefendore, E. J.; Marmer, W.N., 1991, Efficiency of enzymatic solubilization of chrome as influenced by choice of alkalinity-inducing agents. *JALCA*, 86, 199-208.
- Taylor, M. M. et al., 1992, Characterization of products isolated by enzyme treatment of chromium-containing leather waste. *JALCA*, 87, 380-382.
- Taylor, M. M. et al., 1998a, Functional properties of hydrolysis products from collagen. *JALCA*, 93, 40-50.
- Taylor, M. M. et al., 1998b, Processing of leather waste: pilot scale studies on chrome shavings. Part I. Isolation and characterization of protein products and separation of chrome cake. *JALCA*, 93, 61-82.