

Materias grasas como nutrientes para el crecimiento de hongos en piel wet-blue

Rossana Chiocca¹, Elton Hurlow², Francieli Batista¹, Marcelo F. Sousa² and George B. Stockman²

¹Buckman, Rod. Anhanguera, km 107.5, Sumaré/SP, 13181-901, Brasil, +55-19-3864-5000, rchiocca@buckman.com

²Buckman, 1256 North McLean Blvd, Memphis/TN, 38108, USA, +1-901-272-0330, elhurlow@buckman.com, mfsousa@buckman.com, gbstockman@buckman.com

Abstract

El crecimiento de hongos en la piel wet-blue puede crear muchos problemas técnicos y representa un impacto financiero significativo para el curtidor. Los programas de control de hongos actuales son generalmente exitosos en la prevención del crecimiento de moho en piel wet-blue, pero siempre hay interés en desarrollar soluciones más efectivas frente a este problema. La mayoría de los estudios sobre el crecimiento de hongos en la piel se han centrado en la eficacia de varios fungicidas para prevenir el moho. Sin embargo, la microbiología, bioquímica e histología son campos científicos que podrían ser estudiados más a fondo con el fin de ayudar a diseñar soluciones más eficaces a los problemas causados por el moho en la piel. En el trabajo publicado por Zugno et al (2009) se realizó un estudio sobre el crecimiento de varias cepas de hongos en muestras wet-blue que no habían sido tratadas con fungicida. Los resultados mostraron que los aceites y las grasas naturales fueron los principales nutrientes para los hongos. No se encontró evidencia del ataque sobre los componentes de las proteínas estructurales curtidas. Se puede concluir que el daño en la piel se debe principalmente a los cambios físico-químicos resultantes de la descomposición y de la eliminación de la grasa y los consiguientes consumos diferenciales de productos químicos añadidos en las operaciones de recurtición, tintura y engrase. En el presente trabajo, se estudia la influencia de varios tipos de aceites usados comúnmente en las operaciones de engrase y la influencia de las grasas naturales sobre el

crecimiento fúngico en pieles wet-blue. Esto puede contribuir al desarrollo de programas de control de hongos más eficientes con perfiles menos agresivos a nivel ecotoxicológico.

Palabras clave: Hongos, Wet-blue, Grasas, Aceites, piel.

1 Introducción

Cada año, las empresas de curtidos de todo el mundo invierten millones de dólares para proteger sus pieles contra el crecimiento de hongos. La principal línea de defensa frente a éstos son los fungicidas aplicados durante las operaciones de curtición, recurtición y acabado, normalmente basados en TCMTB, OIT, CHED, PCMC, y OPP, solos o en varias combinaciones. Estas sustancias impiden el crecimiento de moho en la piel, y por lo tanto evitan la aparición de manchas, decoloración y otros daños en el artículo final. Si bien hay una comprensión limitada del mecanismo de acción de estas moléculas en el metabolismo de hongos, la mayor parte de la investigación se ha centrado en el trabajo práctico de la aplicación cuantitativa de fungicidas en la piel y su rendimiento relativo. Por lo tanto, todavía hay mucho que aprender sobre cómo se alimentan los hongos por sí mismos cuando se cultivan en un pedazo de piel wet-blue, crust o piel acabada. Este conocimiento podría desempeñar un papel importante en la mejora de la eficiencia de los programas de control de hongos.

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.



CLARIANT

LEATHER SERVICES

WORLDWIDE COVERAGE

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

HQ Headquarters Stahl
Waalwijk, Netherlands



El hecho de que los hongos utilizan grasa natural como sustrato para su crecimiento en la piel, ya sea sobre piel wet-blue o crust, ha sido comentado anteriormente por varios autores, incluyendo Koppenhoefer (1951), Kanagy *et al* (1946) y Wilson *et al* (1952). Kanagy encontró que el contenido en grasa / aceites en piel con presencia de hongos disminuye significativamente con el tiempo y que el porcentaje de materia grasa eliminado podría variar en función de las especies de hongos que crecen en la piel. Sharma y Sharma (1980) observaron que cuando los hongos se cultivan en piel acabada - o bien curtida al vegetal o al cromo - el total de aceites y grasas se reduce entre un 40% - 72% de la cantidad original. Estudios más recientes de Zugno *et al* (2011) investigaron el crecimiento de diferentes especies de hongos en piel wet-blue sin fungicida y mostraron que los aceites y grasas naturales fueron los principales nutrientes para los hongos.

El propósito de este trabajo es poner en marcha un proyecto a largo plazo para investigar más a fondo la relación entre el tipo y la cantidad de grasas / aceites presentes en la piel y su susceptibilidad a la proliferación de hongos. En esta primera fase se evaluará la influencia cualitativa del material graso presente en la piel y los resultados deben servir como punto de partida para futuras investigaciones.

2 Materiales y Métodos

Se evaluó la influencia de diferentes productos engrasantes sobre el crecimiento fúngico utilizando trozos de piel wet-blue de la misma piel que no había recibido ningún producto fungicida durante su procesado. Después del curtido, la piel se cortó en trozos y se sometió a un proceso de extracción con disolvente para la eliminación de la grasa natural. Las muestras se sumergieron en una emulsión de aceite de engrase en agua caliente, y posteriormente se analizó el contenido en grasa total y su incubación en una cámara tropical para la evaluación del crecimiento fúngico. Se midió y se registró diariamente la extensión de la formación de moho. Después de seis semanas en la cámara tropical, cada muestra se analizó de nuevo en cuanto al contenido total de grasa (véase

la figura 1). Se lleva a cabo un ensayo en blanco en conjunción con las muestras - sin engrase añadido - y se evalúan también el desarrollo de hongos y el contenido de grasa.

2.1. Preparación de muestras de piel

Se procede a la curtición al cromo de una piel bovina en un bombo de madera de acuerdo con la formulación descrita en la Tabla 1. Después la curtición, se preparan trozos de cuero con medidas 12 cm x 8 cm tomados de la región central de la piel y se someten a un proceso de extracción con diclorometano en un aparato Soxhlet durante un total de cinco horas a reflujo.

2.2. Preparación de la emulsión de engrase

Después de la extracción de grasa natural, las muestras de piel se sumergieron en una emulsión que contenía uno de los cinco diferentes tipos de aceites: aceite de palma, aceite de almendra de palma, sebo refinado, aceite sintético 1 y aceite sintético 2. Los aceites vegetales y animales fueron suministrados por Miracema -Nuodex (Brasil) y los aceites sintéticos por Buckman India, y sus características se describen en las tablas 2 y 3.

Las emulsiones engrasantes se prepararon en una la relación de 1 parte de engrase a 10 partes de agua en un vaso de precipitados de vidrio y luego se calentó a 50°C durante 10 minutos. Cada muestra de piel wetblue y su duplicado se sumergieron en la emulsión engrasante respectiva durante 45 minutos a 50°C, con agitación.

2.3. Contenido en grasa y análisis del crecimiento de hongos

Después de la inmersión en cada una de las emulsiones de engrase preparadas, se determinó el contenido de grasa natural y total de las muestras de piel de acuerdo con el Procedimiento ABNT-NBR11030 / 1997- "Determinación de las sustancias extraíbles en diclorometano". Después de esto, cada muestra fue incubada en una cámara tropical para evaluar el crecimiento fúngico según la norma

ASTM D7584-10 - "Método estandarizado para la evaluación de la resistencia de la superficie del wet-blue respecto al

crecimiento de hongos en una cámara ambiental".

Después de 42 días en la cámara tropical,

cada muestra y su duplicado se analizaron una vez más en cuanto a la grasa natural y total que contienen, utilizando el mismo método ABNT-NBR11030 / 1997.

Tabla 1 – Formulación de curtición al cromo a partir de pieles bovinas frescas brasileñas

Proceso / Producto	Oferta, % (sobre peso bruto)	Rodar, minutos
Agua	100	
Sodio Carbonato	0.35	
Alcohol Graso Etoxilado	0.15	
Enzima Lipolítico	0.08	
Enzima Proteolítico	0.10	
Bactericida	0.10	120 - Ecurrir
Agua	40	
Alcohol Graso Etoxilado	0.05	
Enzimas Proteolíticos	0.07	
Cal	0.5	60
Sodio Sulfuro (50%)	0.6	90
Cal	1.0	
Enzimas Proteolíticos	0.03	60
Agua	80	
Cal	2.5	
Alcohol Graso Etoxilado	0.1	60
		Rodar 5 / Parar 55 – o/n
		Ecurrir, lavar and descarnar
Agua	100	
Amonio Sulfato	0.3	20 – Ecurrir
Amonio Sulfato	1.5	
Ácidos Dicarboxílicos	0.5	60 – Ecurrir
Agua	60	
Amonio Sulfato	1.5	
Ácidos Dicarboxílicos	1.0	60
Agua	40	
Enzimas de rendido	0.10	60 – Ecurrir /lavar 2x
Agua	30	
Sodio Cloruro	6.0	15
Sodio Clorito (30%)	0.6	15
Acido Fórmico (85%), 1:10	1.0	45
Ácido Sulfúrico (98%), 1:20	1.2	180
Sulfato de cromo (25%, 33% basicidad)	5.5	240
Sodio Formiato	0.5	45
Óxido de Magnesio	0.3	60
Óxido de Magnesio	0.3	480
		Test de ebullición-descargar

Tabla 2 – Composición en ácidos grasos de aceites vegetales y animales: aceite de palma, aceite de semilla de palma y sebo.

Composición en ácidos grasos	Aceite de palma	Aceite de semilla de palma	Sebo
Caprílico (C8:0)	0.0	2.9	---
Cáprico (C10:0)	0.0	2.7	---
Laurico (C12:0)	0.0	49.1	---
Mirístico (C14:0)	0.9	14.2	2.1
Palmítico (C16:0)	41.6	7.5	25.4
Palmitoleico (C16:1)	---	---	2.1
Estearico (C18:0)	3.18	0.7	29.1
Oleico (C18:1)	41.5	16.0	28.2
Linoleico (C18:2)	12.0	6.3	1.1
Linolénico (C18:3)	0.2	0.4	0.5
Otros	0.7	0.2	12.1

Tabla 3 – Características Físico-Químicas de los aceites sintéticos y aceites de origen animal

Características	Sebo	Aceite Sintético 1	Aceite Sintético
Materia activa, %	> 99.0	37.0 – 38.0	64.0 - 66.0
pH (1:10)	NA	6.5 - 8.5	65. – 7.5
Cenizas, %	NA	1.0 – 2.0	NA
Contenido en ácidos esteárico/palmítico, %	50.0 – 60.0	< 0.2	NA

3 Resultados y Discusión

3.1. Contenido en grasa de la piel wet-blue

En la tabla 4 se muestra el contenido en grasa en cada par de muestras antes y después de la incubación en una cámara tropical. Basándose en estos resultados, debe observarse que:
- La distribución de la grasa dentro de las muestras no era muy uniforme, lo que podría haber afectado a los resultados.
La falta de uniformidad también fue

identificada después de desengrasar en las muestras "en blanco".

- En las muestras tratadas con aceite de almendra de palma, sebo y aceite de palma se observó la mayor diferencia en el contenido de grasa - antes y después - de la proliferación de hongos.
- El contenido de aceite sintético 1 después del crecimiento de los hongos era el mismo que antes de la incubación de las muestras en la cámara tropical.

Tabla 4 – Contenido en grasa de las muestras de piel antes y después de la incubación en la cámara tropical.

Muestra#	Aceite utilizado	Contenido en grasa después de la inmersión, %	Contenido en grasa, después de 6 semanas en la cámara tropical, %	Variación del contenido en grasa, %
1A	Sintético 1 – A	2.24	2.08	0%
1B	Sintético 1 – B	2.08	2.25	
2A	Sintético 2 - A	1.66	1.29	-23%
2B	Sintético 2 – B	2.00	1.51	
3A	Aceite de palma – A	0.49	0.23	-50%
3B	Aceite de palma – B	0.52	0.28	
4A	Aceite de semilla de palma - A	1.49	0.18	-90%
4B	Aceite de semilla de palma – B	2.01	0.18	
5A	Sebo - A	1.08	0.32	-78%
5B	Sebo – B	1.55	0.26	
6A	Blanco - A	0.24	0.20	33%
6B	Blanco - B	0.06	0.20	

3.2. Evaluación del crecimiento de hongos

En la Tabla 5 se muestra la evaluación del crecimiento fúngico después de un proceso de incubación en cámara tropical, y la media de los valores se expresa en forma gráfica en la figura 1. La interpretación de los resultados muestra que:

- Todas las muestras resistieron hasta cuatro días en la cámara tropical sin crecimiento de hongos.
- Después de 21 días en la cámara tropical, todas las muestras presentan una tasa muy similar de crecimiento fúngico.
- Las muestras tratadas con aceite sintético 2 presentan el crecimiento más lento, resistiendo hasta nueve días, mientras que todas las otras fracasaron en el día 7. Se observó esta misma tendencia hasta el día 17 del experimento.

- Se puede observar que para los dos aceites sintéticos usados en el estudio cuanto mayor es la cantidad de aceite en la piel wet-blue, más rápido es el crecimiento de hongos.

- Esta relación fue menos evidente, aunque todavía apreciable, en las muestras en blanco (grasa natural), donde la muestra con 0,06% de la grasa natural resistía 2 semanas más que su duplicado con 0,24% de grasa natural.

- En el caso de aceites de sebo, palma y semilla de palma no se observó ninguna relación entre el contenido en grasa y la velocidad de crecimiento de los hongos en la piel wet-blue.

Tabla 5 – Crecimiento fúngico sobre piel wet-blue incubada en la cámara tropical

ID	Aceite	Día 1		Día 2		Día 3		Día 4		Día 7		Día 8		Día 9		Día 10	
		G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F
1A	Sintético 1 - A	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	8	9	8	9	7	9
1B	Sintético 1 - B	10	10	10	10	10	10	10	10	4	7	4	6	3	6	3	6
2A	Sintético 2 - A	10	10	10	10	10	10	10	10	9	10	9	9	9	8	8	7
2B	Sintético 2 - B	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9	9	9	9	9
3A	Palma - A	10	10	10	10	10	10	10	10	5	5	4	4	4	4	3	4
3B	Palma - B	10	10	10	10	10	10	10	10	8	8	7	8	7	8	7	7
4A	Semilla de palma - A	10	10	10	10	10	10	10	10	7	7	7	7	7	7	7	7
4B	Semilla de palma - B	10	10	10	10	10	10	10	10	7	7	7	6	7	5	6	5
5A	Sebo - A	10	10	10	10	10	10	10	10	7	5	6	5	6	5	5	5
5B	Sebo - B	10	10	10	10	10	10	10	10	6	6	6	6	6	6	6	6
6A	Blanco - A	10	10	10	10	10	10	10	10	5	5	4	4	4	4	4	4
6B	Blanco - B	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	7	9	6	8	6	8
ID	Aceite	Día 11		Día 14		Día 15		Día 16		Día 17		Día 18		Día 21		Día 22	
		G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F
1A	Sintético 1 - A	7	9	6	8	6	8	5	7	4	6	3	6	3	6	3	6
1B	Sintético 1 - B	2	6	1	5	0	4	---	4	---	3	---	2	---	1	---	1
2A	Sintético 2 - A	8	7	7	7	6	6	5	5	4	4	3	3	2	2	1	2
2B	Sintético 2 - B	9	9	8	8	8	8	7	7	6	6	6	6	6	6	6	6
3A	Palma - A	3	4	2	3	2	3	2	2	1	2	1	2	1	2	1	2
3B	Palma - B	7	7	5	6	4	6	3	6	3	6	3	6	3	6	3	6
4A	Semilla de palma - A	7	7	6	7	5	7	4	6	3	6	3	6	2	6	2	6
4B	Semilla de palma - B	6	5	5	5	4	4	4	4	3	3	2	3	2	3	2	3
5A	Sebo - A	4	5	4	4	3	4	3	4	3	4	3	4	3	3	3	3
5B	Sebo - B	5	6	5	5	4	4	4	4	3	4	2	4	1	4	1	4
6A	Blanco - A	3	4	2	3	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
6B	Blanco - B	6	8	6	7	5	6	5	6	5	6	5	6	5	6	5	6

ID	Aceite	Día 23		Día 28		Día 35		Día 42	
		G	F	G	F	G	F	G	F
1A	Sintético 1 - A	3	6	3	6	3	6	3	6
1B	Sintético 1 - B	---	1	---	1	---	1	---	1
2A	Sintético2 - A	1	2	1	2	1	2	1	2
2B	Sintético 2 - B	6	6	6	6	6	6	6	6
3A	Palma - A	1	2	1	2	1	2	1	2
3B	Palma - B	3	6	3	6	3	6	3	6
4A	Semilla de palma - A	2	6	2	6	2	6	2	6
4B	Semilla de palma - B	2	3	2	3	2	3	2	3
5A	Sebo - A	3	3	3	3	3	3	0	0
5B	Sebo - B	1	4	1	4	1	4	1	4
6A	Blanco - A	1	2	1	2	1	2	1	2
6B	Blanco - B	5	6	5	6	5	6	5	6

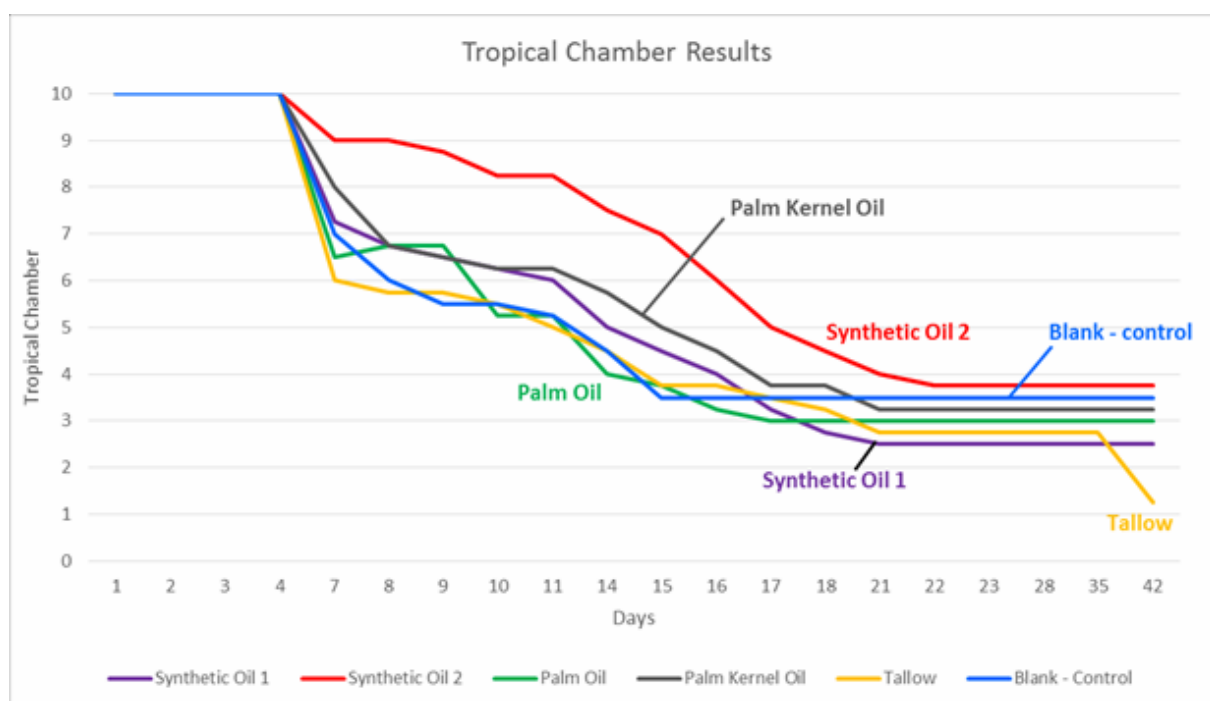


Figura 1 – Representación gráfica de los resultados promedio de la Cámara tropical

4 – Conclusiones

Durante el tratamiento de las pieles, todas las muestras presentaron un intenso crecimiento de moho en un tiempo de incubación muy corto debido a la ausencia de fungicida. Los resultados mostraron una reducción significativa del contenido total de grasa/aceites en todas las muestras, excepto en las muestras tratadas con aceite sintético 1. Estas observaciones refuerzan la conclusión de Zugno *et al* (2011) acerca de que los materiales grasos son uno de los principales sustratos para el crecimiento de

hongos en el cuero wet-blue. Los resultados también indican que algunos tipos de aceites sintéticos pueden no ser susceptibles a la degradación por hongos; ya que el cuero tratado con este tipo de aceite presentó también una contaminación severa de moho después de 8-9 días de incubación en la cámara tropical, por lo que es razonable concluir que en este caso los hongos encuentran otro sustrato.

Está claro que los *hongos que crecieron en la superficie de las muestras wet-blue muestran un metabolismo más alto con aceites naturales (de semilla de palma, de sebo y de palma) que con aceite sintético.*

Sin embargo, después de dos semanas en la cámara tropical todas las muestras fueron afectadas severamente por el moho. Esto demuestra que incluso sin fungicida las pieles sin un contenido significativo de grasa natural (en blanco) o con engrase sintético solamente, serían más fácilmente atacadas por los hongos.

Se observa que, mientras que algunos engrasantes presentan una clara relación entre el contenido de grasa de la piel y la velocidad de crecimiento de los hongos, otros no muestran el mismo patrón. Esto podría estar relacionado con el consumo de producto engrasante, su distribución en la piel, y su susceptibilidad a la degradación fúngica.

En la muestra tratada con aceite sintético 1 no hubo una reducción en el material graso después cámara tropical, aunque el crecimiento de los hongos fue muy intenso después de 8 días. En el caso del aceite sintético 2, el crecimiento de los hongos fue menos intenso en comparación con el aceite

sintético 1, pero el material graso se redujo en un 23% después de 6 semanas en la cámara tropical. Estos resultados indican que para los aceites sintéticos usados en este estudio, no hubo una relación directa entre el engrase y el moho.

Los resultados de este primer estudio identificaron algunas áreas que podrían investigarse más a fondo con el fin de mejorar nuestro conocimiento de la proliferación de los hongos y el material graso, incluyendo:

- Explorar las diferencias entre los aceites sintéticos y sus efectos sobre el crecimiento fúngico
- Estudiar la relación entre la concentración de engrase y el carácter iónico y el metabolismo de los hongos
- Identificar qué otros componentes son degradados significativamente por hongos (elastina, otras proteínas no curtidas, azúcares, etc.)

5 Agradecimientos

Los autores quieren agradecer a Miracema-Nuodex de Brasil por proporcionar el sebo, el aceite de palma y el aceite de semilla de palma.

6 Referencias

1. Fontoura, J.T. and Gutterres, M., J. Am. Leather Chemist Assoc. **110**, 138-144 (2015)
2. Kanagy, J.R., Charles, A.M., Abrams, E. and Tener, R.F., J. Am. Leather Chemists Assoc. **41**, 198-213 (1946)
3. Koppenhoefer, R. M., Leather and Shoes 122, **30** (1951).
4. Wilson, H.R., Merrill, H.B. and Higby, W.M., J. Am. Leather Chemist Assoc. **49**, 404-407 (1954)
5. Zugno, L.A., Hurlow, E.L and Oppong, D., J. Am. Leather Chemist Assoc. **106**, 1-7 (2011)