



**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

Ineta Komičiūtė

**Baltyminių odų išdirbimo pramonės atliekų perdirbimas ir
panaudojimas žemės ūkyje**

Baigiamasis magistro darbas

Vadovas
dr. Justa Širvaitytė

Kaunas, 2016

**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

**Baltyminių odų išdirbimo pramonės atliekų perdirbimas ir
panaudojimas žemės ūkyje**

Baigiamasis magistro darbas

Taikomoji chemija (kodas 612F10003)

Vadovas

(parašas) dr. Justa Širvaitytė
(data)

Recenzentas

(parašas) prof. dr. Virgilijus Valeika
(data)

Darbą atliko

(parašas) Ineta Komičiūtė
(data)

Kaunas, 2016



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

Ineta Komičiūtė

Taikomoji chemija (kodas 612F10003)

Baltyminių odų išdirbimo pramonės atliekų perdirbimas ir panaudojimas žemės ūkyje

AKADEMINIO SAŽININGUMO DEKLARACIJA

2016 m. birželio mėn. 02 d.

Kaunas

Patvirtinu, kad mano **Inetos Komičiūtės** baigiamojo darbo tema „**Baltyminių odų išdirbimo pramonės atliekų perdirbimas ir panaudojimas žemės ūkyje**“ yra parašytas visiškai savarankiškai, o visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena darbo dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymu nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

(parašas)

Komičiūtė, Ineta. Baltyminių odų išdirbimo pramonės atliekų perdirbimas ir panaudijimas žemės ūkyje. *Magistro* baigiamasis darbas, vadovas dr. Justa Širvaitytė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Mokslo kryptis ir sritis: Fiziniai mokslai, chemija

Reikšminiai žodžiai: *oda, atliekos, perdirbimas, hidrolizė, rapsai.*

Kaunas, 2016. 66 p.

SANTRAUKA

Apie 60-65 % kietųjų odų išdirbimo pramonės atliekų sudaro mėzdras ir odos nuopjovos bei atplaišos, kurios 90-95% sudarytos iš baltymų. Didesnė dalis šių atliekų yra išvežamos į sąvartynus. Bet vis labiau pasaulyje ieškoma tokių atliekų perdirbimo ir panaudojimo būdų, kad būtų galima kuo efektyviau sumažinant jų kiekį sąvartynuose ir žalingą jų poveikį aplinkai.

Rapsai – vieni iš svarbiausių prekinių augalų Lietuvoje. Rapsų augintojams siūloma ne plėsti šių augalų auginimo plotus, bet kelti šių augalų derlingumą. Sėklų apdorėjimas, t.y. sėklos padengimas danga yra paprasta ir efektyvi apsaugos priemonė leidžianti padidinti augalų derlingumą. Darbo tikslas buvo gauti kokybišką plėvelę iš baltyminių odų pramonės atliekų rapsų sėkloms apdoroti, o plėvelės irimo metu – trąšą skatinančią rapsų vegetaciją. Ištirta fermentinė ir terminė skirtingos sudėties baltyminių odų pramonės atliekų hidrolizės, gautų hidrolizatų plėvėdarinės, plėvelių cheminės, fizikinės ir mechaninės savybės, įvertintas gautų hidrolizatų poveikis rapsų vegetacijai.

Komičiūtė, Ineta. *Protein tannery industrial waste processing and utilization in agriculture: Master's degree*, supervisor PhD. Justa Širvaitytė. The Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Research area and field: Physical Sciences, Chemistry

Key words: thermal and enzymatic hydrolysis, waste leather protein, rapeseed

Kaunas, 2016, 66 p.

SUMMARY

About 60-65% of solid waste in leather industry are fleshings and trimmings which consists 90-95% from proteins. The biggest part of this waste are transported to landfills. But more and more in the world researcher are looking for such waste recycling and recovery methods, to make more efficient waste management by reducing their amount in landfills and their impact to the environment.

Rapeseed is one of the most important commodity plants in Lithuania. To rapeseed growers is suggested not to expand the growing areas of plants, but also raise productivity of these plants. Seed treatment, e.g. seed coating is simple and effective protective tool which allows to increase plant productivity. The aim was to obtain high-quality film of leather industry waste rich by proteins to rapeseed coating and through the film decomposition receive the fertilizer as promoter to rape vegetation. It was investigated thermal and enzymatic hydrolysis of leather industry waste rich by proteins and estimated received hydrolysate film forming properties, such film properties as chemical and physical-mechanical properties and their impact on rape vegetation.

TRUMPINIŲ IR SPECIFINIŲ TERMINŲ PAAIŠKINIMAI

FP – fermentinis preparatas.

o.m. - odos masė.

ž.m. – žaliavos masė.

UVa- spektrofotometrinė analizė.

HPLC – aukšto slėgio skysčių chromatografija.

SDS-PAGE – natrio dodecilsulfato pliakrilamido gelio elektroforezė.

DPPH – 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas.

PE – polietilenas.

Oda – viršutinis gyvūno kūno sluoksnis, žaliava šikšnomis išdirbti.

Plikė – šikšnos pusgaminis po plikinimo, kalkinimo, nukalkinimo bei pikeliavimo procesų.

Šikšna – išdirbta oda po apdailos procesų.

Atmirkymas – pirmasis šikšnų ir kailių išdirbimo procesas, apdorojant žaliavą vandeniu ir cheminėmis medžiagomis.

Plikinimas – plaukų ir epidermio šalinimas nuo dermos.

Šikšnimas – plikės ar pusgaminio kailiams apdorojimas neorganinėmis ir (ar) organinėmis šikšninančiomis medžiagomis.

TURINYS

IVADAS.....	9
1. LITERATŪROS APŽVALGA	10
1.1 Augalų derlingumą lemiantys veiksniai	10
1.2 Rapsai ir jų savybės.....	11
1.3 Rapsų cheminė sudėtis	13
1.4 Rapsų kokybę įtakojantys veiksniai	16
1.5 Baltyminės odų pramonės atliekos.....	17
1.6 Baltyminės odų pramonės atliekų sudėtis	17
1.7 Baltyminių odos pramonės atliekų utilizavimo galimybės.....	19
1.8 Kolageno hidrolizatų gavimas terminės ir fermentinės hidrolizės būdais.....	23
1.9 Kolageno hidrolizatų panaudojimas žemės ūkyje	26
2. METODINĖ DALIS	29
2.1 Tyrimo objektas, naudotos medžiagos ir apdorojimo metodikos.....	29
2.2 Bandinių analizės metodai.....	30
2.2.1 Drėgnio nustatymas	30
2.2.2 Pelenų kiekio nustatymas	30
2.2.3 Bendrojo baltymų ir azoto kiekio nustatymas	31
2.2.4 Hidroksiprolino ir kolageninių baltymų kiekio nustatymas	32
2.2.5 Dichlormetane tirpių medžiagų kiekio nustatymas	33
2.2.6 Tirpių vandenyje baltymų molekulinės masės nustatymas kapiliarinės elektforezės metodu.....	33
2.2.7 Plikės miltelių, odos nuopjovų ir mėzdrių ištraukos pH nustatymas.....	33
2.2.8 Sausų medžiagų kiekio nustatymas plėvelėse	33
2.2.9 Plėvelių fizikinių ir mechaninių savybių nustatymas	34
2.2.9.1 Plėvelę sudarančių medžiagų suirimo įvertinimas apibrėžtomis kompostavimo sąlygomis.....	34
2.2.9.2 Plėvelės visiško aerobinio biologinio skaidumo vandens terpėje nustatymas, matuojant deguonies suvartojimą uždarame respirometre	34
2.2.10 Komposto kokybinių rodiklių nustatymas.....	35
2.2.10.1 Vilgumo kampo nustatymas	35
2.3 Rapsų maitinamosios terpės paruošimas	35
2.3.1 Rapsų sėklų sterilizavimas	37
2.3.2 Rapsų auginimo sąlygos.....	37
2.3.3 Baltymų kiekio nustatymas augalinėje žaliavoje	37
2.4 Rezultatų patikimumo apskaičiavimas	38
3. EKSPERIMENTŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	39
3.1 Baltyminių odų pramonės atliekų sudėtis.....	39

3.2 Terminės ir fermentinės baltyminių odų pramonės atliekų hidrolizės tyrimas	40
3.2.1 Terminė baltyminių odų pramonės atliekų hidrolizė.....	41
3.2.2 Fermentinė baltyminių odų pramonės atliekų hidrolizė	47
3.3 Kolageninių hidrolizatų įtaka rapsų daigumui ir kokybei	51
3.4 Plėvelių gautų iš baltyminių odų pramonės atliekų savybės	53
Išvados.....	59
Literatūros sąrašas	60
MOKSLINĖS PUBLIKACIJOS IR DALYVAVIMAS MOKSLINĖSE KONFERENCIJOSE	66

IVADAS

Apsirūpinimas maistu yra vienas iš svarbiausių pasaulio uždavinių, nes remiantis Pasaulio Prekybos Organizacijos duomenimis, iki 2050 m. pasaulyje maisto, o tuo pačiu ir pašarų, pluošto, biomasės ir biologinės medžiagos, poreikis išaugs 70 %. Laiku netaikant augalų apsaugos priemonių galimi derliaus nuostoliai. Todėl augalų apsaugos priemonių naudojimas yra būtina visų žemės ūkio augalų auginimo technologijų sudėtinė dalis. Sėklų apdorojimas yra paprasta ir efektyvi apsaugos priemonė. Sėklų danga, kuria padengiama sėkla, yra multifunkcinė sistema sprendžianti daugelį uždavinių. Visų pirma danga padidina sėklos skersmenį, o tai mažina sėklų išėigą sėjos metu; dangoje gali būti trąšų, augimo stimuliatorių, fungicidų ir insekcidų, apsaugančių tiek sėklą, tiek patį augalą nuo ligų ir kenkėjų, bei vykdo apsauginę funkciją nuo fizinių pažeidimų. Sėklų dangoms formuoti dažniausiai naudojami polivinilacetatas arba polivinilalkoholis, kurių bioskaidumas nėra didelis, o nesuirę junginiai kaupiasi dirvožemyje. Todėl kaip ir kitose pramonės srityse, žemės ūkyje siekiama naudoti bioskalius polimerus ar jų darinius.

Apie 60-65 % kietųjų odų pramonės atliekų sudaro mėzdras ir odos nuopjovos bei atplaišos, kurios 90-95% sudarytos iš baltymų, o kolageno stambių galvijų odose yra apie 30 procentų. Didesnė dalis atliekų yra išvežamos į sąvartynus ir užkasamos. Bet vis labiau pasaulyje ieškoma tokių atliekų panaudojimo, taip norint sumažinant jų kiekį sąvartynuose ir žalingą poveikį aplinkai.

Rapsai – pagrindiniai vidutinių klimato juostų aliejiniai augalai. Jų plotai pasaulyje ir Lietuvoje nuolat didėja dėl sparčiai augančio augalinio aliejaus paklausos maisto bei pramonės reikmėms tenkinti. Šiuo metu rapsų augintojams siūloma plėsti ne tik šių augalų plotus, bet ir kelti augalų derlingumą. Todėl danga, suformuota iš kolageno hidrolizato gauto iš baltyminių odų pramonės atliekų, leistų ne tik suformuoti dangą, bet ir galimai augalo dygimo metu aprūpintų jį maistinėmis medžiagomis.

Šio darbo tikslas yra gauti kokybišką plėvelę iš baltyminių odų pramonės atliekų rapsų sėkloms apdoroti ir plėvelės irimo metu – trąšą skatinančią rapsų vegetaciją. Siekiant užsibrėžto tikslo būtina išspręsti šiuos uždavinius:

1. Nustatyti pasirinktų baltyminių odų pramonės atliekų sudėtį.
2. Ištirti fermentinę ir terminę baltyminių odų pramonės atliekų hidrolizę pasirinktomis sąlygomis.
3. Įvertinti gautų hidrolizatų poveikį rapsų vegetacijai.
4. Ištirti gautų hidrolizatų plėvėdarines savybes bei ištirti gautų plėvelių chemines, fizikines ir mechanines savybes.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 Augalų derlingumą lemiantys veiksniai

Derliaus kokybinius rodiklius lemia dirvožemio kokybė, meteorologinės sąlygos augimo metu, kenkėjai, trąšos ir tręšimo laikas bei atskirų veislių ypatybės [1]. Meteorologinėms sąlygoms įtakos neįmanoma daryti, o tręšimą ir apsaugą nuo kenkėjų subalansuoti galima, jei norima užauginti aukštos kokybės derlių.

Šiuolaikinis žemės ūkis orientuojasi į didelį ir stabilų derlingumą [2]. Norint gauti optimalų augalų derlių reikia atsižvelgti į daugelį veiksnių:

- tinkamai pasirinkta sėkla;
- sėklos paruošimą;
- subalansuotą pagrindinį tręšimą trąšomis;
- savalaikį papildomą ir palaikomąjį tręšimą;
- ligų, kenkėjų ir piktžolių kontrolę.

Visus aukščiau įvardintus veiksnius galima kontroliuoti ir taip įtakoti derlingumą. Šiuolaikinės technologijos žemės ūkyje, leidžia mažesnėmis sąnaudomis sukurti kelis kartus daugiau produkcijos nei anksčiau, spręsti aplinkosaugos problemas, sudaryti galimybes efektyviai ūkininkauti.

Žemės ūkio augalų derlių trąšos lemia – 41 %, herbicidai – 13-20 %, klimato sąlygos – 15 %, hibridinė sėkla – 8 % ir kitos priemonės – 11-18 % [3].

Žemdirbystėje didelę reikšmę derliui turi tręšimas [4]. Tręšimas turi įtakos ne tik derlingumui, bet ir derliaus kokybei. Dirvožemyje maisto medžiagų nepakanka, kad būtų išauginamas planuojamas derlius, taip pat dirvožemio našumas mažėja, taigi augalai jų turi gauti papildomai. Pagrindinis maisto medžiagų šaltinis – organinės ir mineralinės trąšos. Trąšos – tai mineralinės ir organinės medžiagos, kurių sudėtyje yra augalui reikalingų maisto medžiagų. Dirvožemyje jos kaupia atsargines augalų maisto medžiagas ir taip didina dirvožemio našumą. Trąšos gali veikti augalus tiesiogiai, kai trąšos augalus aprūpina maisto medžiagomis ir netiesiogiai, gerindamos dirvožemio struktūrą, šilumos režimą, naudingų mikroorganizmų veiklą ir išsaugo daugiau augalų maisto medžiagų, t. y. padidina dirvožemio našumą pagerindamos mitybos sąlygas [3].

Augalo optimalus vystymasis, derlius, jo kokybė bei ligų ir kenkėjų kiekio reguliavimo pirmas etapas susijęs su sėjamosios medžiagos dezinfekcija (beicavimu) [5]. Sėklų danga, kuria padengiama beicavimo metu, yra multifunkcinė sistema, sprendžianti daugelį uždavinių. Visų pirma, danga padidina sėklos skersmenį, o tai mažina sėklų išėgą sėjos metu; dangoje gali būti

trąšų, augimo stimuliatorių, fungicidų ir insekticidų apsaugančių tiek sėklą, tiek patį augalą nuo ligų ir kenkėjų, bei vykdo apsauginę funkciją nuo fizinių pažeidimų. Polimerinis išorinis apvalkalas atlieka šių medžiagų „inertinio nešiklio“ vaidmenį. Įprastai rapsų sėklų dangalas formuojamas iš polivilacetato (PVA) homopolimero [6]. Pham L.G ir Rame G. gauti rezultatai parodė, kad padengiant ryžių sėklas polimero danga padidėja sėklų daigumas [7]. Polimerinė danga padeda išlaikyti sėklas mechaniškai nepažeistas, taip pat padengia nedidelius sėklų įtrūkimus ir taip apsaugoja nuo grybelinių infekcijų.

Augalų ligos, kenkėjai ir piktžolės taip pat mažina pasėlių derlingumą [8]. Laiku netaikant augalų apsaugos priemonių, derliaus nuostoliai vidutiniškai sudaro apie 30 %, o palankiomis žalingiesiems organizmams plisti sąlygomis gali siekti 50 % ir daugiau. Augalams apsaugoti nuo ligų, kenkėjų ir piktžolių naudojamos cheminės medžiagos (pesticidai). Daugelis augalų apsaugos priemonių veikia ne tik žalinguosius organizmus, bet gali daryti poveikį aplinkai ir žmonių sveikatai. Todėl jų naudojimas yra reglamentuojamas ir turi būti ekonomiškai pagrįstas.

Apsirūpinimas maistu yra vienas iš svarbiausių pasaulio uždavinių tiek dabar, tiek ir ateityje, nes remiantis Pasaulio Prekybos Organizacijos duomenimis, iki 2050 m. pasaulyje maisto, o tuo pačiu ir pašarų, pluošto, biomasės ir biologinės medžiagos, poreikis išaugs 70 % [9]. Tačiau šią užduotį apsunkina suprastėjęs našumas: labiausiai dėl to, kad sumažėjo investicijos į tyrimus žemės ūkio srityje, sustiprėjo neigiamas poveikis aplinkai ir gamtiniams ištekliams. Apie 40 % žemės ūkio paskirties plotų iškilęs nitratų taršos pavojus, o per paskutinius 20 metų tokiuose plotuose besiveisiančių paukščių populiacija sumažėjo 20–25 %.

Apibendrinant būtų galima teigti, kad pagrindinis žemės ūkio sektoriui ateityje iškilsiantis uždavinys yra gaminti ne tik daugiau, bet ir tausojant aplinką. Norint išspręsti keliamus uždavinius bus galima tik aktyviai skatinant pasinaudoti tyrimų rezultatais – visų pirma skatinant mokslininkus, ūkininkus ir kitus sektoriaus dalyvius aktyviau bendradarbiauti, greičiau perkelti technologinius pasiekimus iš mokslinio lygmens į ūkininkavimo praktiką ir sistemingiau rinkti grįžtamąją informaciją apie praktinius ūkininkavimo poreikius, kuriems reikia ieškoti mokslinio sprendimo.

1.2 Rapsai ir jų savybės

Rapsai (*Brassica napus L.*) – bastutinių šeimai priklausantys augalai – vieni pagrindinių aliejinių augalų, auginamų Lietuvoje [10].

Lietuvoje 60-70 % šalies dirvožemių yra tinkami rapsams auginti, o pasėlių struktūroje rapsai galėtų sudaryti 20-25 %, tai sudarytų 350-390 tūkst. ha [11]. Gausus ir geros kokybės rapsų derlius užauginamas optimizavus jų augimo, vystymosi, žiemojimo, mitybos, derliaus

struktūros elementų formavimosi bei kitas sąlygas, kurios priklauso nuo gamtinių ir klimatinų veiksnių, dirvožemio ypatumų, agrotechnikos priemonių taikymo ir naudojamų rapsų augimo technologijų [12].

Rapsai – vieni iš svarbiausių prekinių augalų Lietuvoje [13]. Rapsų aliejus naudojamas biodegalų gamyboje, kaip maisto produktas, o rapsų išspaudos – kaip baltymingas pašaras. Rapsai auginami sėkloms, žaliajam pašarui, silosui ir žaliajai trąšai. Taip pat rapsai dar vadinami dirvos fitosanitarais, jie gerina dirvos struktūringumą, savo šaknų išskyromis pristabdo kai kurių piktžolių augimą [14]. Bitės iš vieno hektaro žydinčių rapsų surenka 80-100 kg medaus [15]. Nors gydomąja prasme toks medus yra mažiau vertingas nei kitų augalų (liepų, grikių), tačiau labai vertinamas konditerijos pramonėje.

Vertinant statistinius duomenis Lietuvoje rapsų sėklų produkcija sparčiai auga [16]. 1993 m. buvo rapsų pasėliai užėmė vos 5,2 tūkstančiai hektarų, o 2014 m. jau 259 tūkst. hektarų šios aliejinės kultūros. Kasmet bendras rapsų derlius siekia iki 0,5 mln. t. Vidutinis derlingumas viršija 3 tonas iš hektaro.

Rapsai (*Brassica napus* var. *Oleifera* DC) ir rapsiukai (*Brassica rape* var. *Oleifera* DC) yra dvi augalų rūšys, priklausančios bastutinių (*Cruciferae* arba *Brassicaceae*) šeimai [17]. *Brassicaceae* šeima– tai viena iš augalų šeimų, kurią sudaro apie 350 genčių ir 3500 rūšių, priskiriant ir sodo, lauko augalus bei daržoves [18-21]. Rapsai yra dviejų rūšių: vasariniai ir žieminiai.

Citologiniais tyrimais nustatyta, kad vasariniai rapsai (*Brassica napus* L.) yra kopūstų ir rapsiukų hibridai. Kanados selekcininkai sukūrė mažai eruko rūgšties ir gliukozinolatų turinčias, vadinamas dviejų nulių (00) veisles, kurios greitai išplito po visą pasaulį ir dabar auginamos daugiau kaip 30 šalių.



1.1 pav. Rapsas (lot. *Brassica napus*)

Skirtingų rapsų veislių sėklų aliejingumas ir cheminė sudėtis skiriasi (riebalų, baltymų, eruko rūgšties, gliukozinolatų kiekis) [20]. Rapsų derlius labai priklauso nuo tinkamai paruoštos dirvos. Jiems auginti tinkamas lengvas rūgštokas priemolis, kurio pH 5,5-7,0. Apie 70 % šalies dirvožemių Lietuvoje yra tinkami rapsams auginti. Yra du rapsų

porūšiai: žieminiai ir vasariniai. Rapsai – tai drėgmę mėgstantys augalai ir jos trūkumas ypač kenkia žydint ir formuojant sėklas.

Vasariniai rapsai vystosi skirtingai nei žieminiai [22]. Ankstyvose vegetacijos fazėse jie auga lėtai. Priklausomai nuo oro temperatūros ir drėgmės kiekio dirvoje, nuo daigų pasirodymo iki butonizacijos praeina apie 22 – 39 dienos. Vėliau augalai vystosi ir vegetatyvinę masę augina gerokai sparčiau. Nuo butonizacijos pradžios iki žydėjimo praeina apie 10-15 dienų. Žydėjimas tęsiasi 20-25 dienas, o sėklos formuojasi 30-40 dienų. Priklausomai nuo veislės, vasarinių rapsų vegetacijos periodas trunka apie 100-120 dienų.

Žieminiai rapsai (*Brassica napus L.*) pradeda žydėti ganėtinai anksti gegužės viduryje [22]. Žieminių rapsų vystymuisi, auginimui, žiemojimui, derliui didžiulę reikšmę turi pasėlių tankumas. Jie rudenį išaugina 5–9 lapų skrotele, o stiebas pradeda vystytis kitų metų pradžioje. Žieminiai rapsai yra sėjami liepos pabaigoje arba rugpjūčio pradžioje į dirvą po ankstyvų bulvių, mišinių žaliajam pašarui nuėmimo. Žieminiai rapsai vidutiniškai 45 derlingesni ir 2,4 riebalingesni už vasarinius.

1.3 Rapsų cheminė sudėtis

Mitybos (žmonių, gyvūnų) požiūriu rapsų sėklų sudedamąsias medžiagas galima suskirstyti į tris grupes [23]. Jos pateiktos 1.1 lentelėje.

1.1 lentelė. Sudedamosios („00“ tipo) rapsų sėklų medžiagos, turinčios įtakos jų kokybei [23]

Grupė	Sudedamosios medžiagos
Vertingos sudedamosios medžiagos	Riebalai / riebalų rūgštys, baltymai / aminorūgštys, vitaminai
Neutralios sudedamosios medžiagos	Cukrus, celiuliozė
Maistinę vertę mažinančios sudedamosios medžiagos	Ligninas, oligosacharidai, gliukozinolatai, sinapinas ir kitos

Vertingos sudedamosios medžiagos. Rapsų sėklose yra gausu riebalų (vidutiniškai – 36-50 sausos medžiagos) ir baltymų. Lyginant su sojų pupelėmis, žaliųjų riebalų rapsų sėklose yra daugiau nei dvigubai, tačiau žaliųjų baltymų – apie 40 % mažiau [24]. Rapsų sėklose beveik nėra krakmolo, ląstelienoje gausu lignino, kuri yra nepageidaujama sudedamoji medžiaga. Didelis ląstelienos kiekis priklauso nuo sėklų luobelės kiekio, kurio jose būna nuo 15 iki 22 % [25].

Labai svarbi rapsų sėklose sudedamoji medžiaga yra riebalai (aliejus). Pagal cheminę sudėtį – tai glicerolio ir įvairių riebalų rūgščių esteriai. Aliejaus kokybę lemia esančios riebalų rūgštys [26]. Rapsų sėklose dominuoja nesočiosios riebalų rūgštys. Gamtiniuose lipiduose aptinkama apie 200 įvairių riebalų rūgščių. Rapsų aliejuje gausu mono- bei polinesočiųjų riebalų

rūgščių tokių kaip linoleno, linolo ir oleino. Didžiausią dalį sudaro oleino rūgštis. Pagal oleino rūgšties kiekį rapsų aliejus gretimas alyvuogių aliejui [27]. Mažiau aptinkama nesočiųjų riebalų rūgščių – linolo ir linoleno, o mažiausiai eruko rūgšties. Fiziologiniu požiūriu omega-3 ir omega-6 riebalų rūgščių rapsų aliejuje santykis yra artimas optimaliam, todėl rapsų aliejus yra vertingas maisto produktas [28]. Riebalų rūgščių santykio pokyčiai rapsų populiacijoje dažniausiai priklauso nuo aplinkos veiksnių, todėl augalų selekcijoje taikomi biotechnologiniai metodai.

Iš rapsų sėklų išspaudus aliejų, lieka rupiniai ir išspaudos, turinčios apie 40 baltymų [29]. Didžiausią dalį tarp visų rapsų rupinių maistinių medžiagų sudaro baltymai (~ 40 %). Baltymų turinys priklauso nuo sėklose esančių žaliųjų medžiagų, o taip pat ir nuo jų perdirbimo. Tuo tarpu rapsų baltymai vertingi tuo, kad juose yra žymiai didesnis kiekis svarbių nepakeičiamų aminorūgščių (lizino, treonino, triptofano ir kt.), lyginant su javų baltymais [23]. Dėmesio vertas ir didelis sieros turinčių aminorūgščių (metionino ir cistino) kiekis. Naudojant paukščių lesaluose 00 tipo rapsą, o taip pat ir jo produktus, galima sumažinti sintetinio metionino reikmę. Rapsai, pasižymintys dideliu baltymų kiekiu taip pat gali būti naudojami ir kaip sojos rupinių bei kitų baltyminių pašarų pakaitalas. Tuo remiantis, rapsų baltymai laikomi ypatingai svarbiais gyvulių ir paukščių mityboje.

Neutralios sudedamosios medžiagos. Rapsų šaknyse, ūgliuose ir ankštarose yra aptinkamos neutralios sudedamosios medžiagos [30, 31]. Tiriant, įvairių tirpių parametrų poveikį – hemiceliuliozės, celiuliozės ir į ligniną panašių komponentų kiekius rapsuose, buvo nustatyta, kad augaluose, šių medžiagų sudėtis priklauso nuo azoto įsisavinimo sąlygų augalo augimo metu.

Maistinę vertę mažinančios medžiagos. Šios rapsų sėklų sudedamosios medžiagos pateikiamos 1.2 lentelėje.

1.2 lentelė. Medžiagos, mažinančios rapsų sėklų maistinę vertę [32]

Medžiagų grupė / medžiaga	Kiekis	Poveikis
Ląstelės sienelės medžiagos	145–200 g/kg SM*	Neigiamas poveikis maisto medžiagų (baltymų, aminorūgščių, riebalų) virškinamumui
Oligosacharidai	20–30 g/kg SM	Virškinimo sutrikimai dėl susidariusių rūgimo dujų
Gliukozinolatai	5–25 g/kg SM	Skyd liaukės funkcijos sutrikimai, neigiamas poveikis pašarų ėdamumui ir gyvūnų produktyvumui

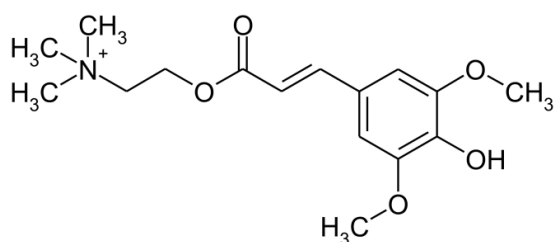
1.2 lentelės tęsinys

Sinapinas	4–9 g/kg SM	Dėl skilimo produkto trimetilamino vištų, dedančių kiaušinius rudu lukštu, kiaušiniai įgauna žuvies skonį ir kvapą
Fitino rūgštis ir jos druskos (fitatai)	37–48 g/kg SM	Surišami makroelementai ir mikroelementai, ir todėl yra blogiau įsisavinami
Tanidai ir fenolio rūgštys	2–3 g/kg SM	Neigiamas poveikis baltymų (aminorūgščių) virškinamumui

* – kiekis sausose sėklose

Gliukozinolatai yra viena iš natūraliai susidarančių tioglikozidų klasių, kurie yra būdingi bastutinių šeimai ir daugiau nei penkiems šimtams augalų [33]. Daugiausiai gliukozinolatų randama *Capparales* ir *Brassicaceae* šeimose [34, 35].

Rapsų sėklose yra daug antioksidantų – fenolinių junginių, iš kurių didžiausią kiekį sudaro sinapino rūgšties cholinesteris – sinapinas (1.2 pav.) Rapsuose jo būna apie 1,35-2,27 %. Sėklose sukelia baltymų skonio, kvapo ir spalvos suprastėjimą. Be to tokie nepalankūs pokyčiai gali oksiduoti fenolinius junginius, kurie jungiasi su pagrindinėmis aminorūgštimis sudarydami kompleksus, kurie yra neįsisavinami žmonių ir gyvūnų virškinimo trakto. Fenoliniai junginiai taip pat suriša sunkiuosius metalus į kompleksus, o tai žymiai sumažina jų panaudojimo galimybes.



1.2 pav. Sinapino struktūrinė formulė

Fitino rūgštis ir jos druskos (fitatai) taip pat mažina maistinę rapsų vertę. Jų pagalba surišami mikroelementai ir todėl jie yra blogiau pasisavinami. Todėl gyvūnų virškinimui pagerinti, į pašarų racionus su rapsų echstrahuotais rupiniais ir rapsų išspaudomis, rekomenduojama įterpti fermentinio preparato fitazės. Taip geriau virškinami pašarai ir lengviau įsisavinamas fosforas.

Tanidai ir fenolio rūgštys neigiamai veikia pašaruose esančių baltymų (aminorūgščių) virškinimą [36]. Pastaruoju metu daugelio šalių mokslininkai siekia sukurti geltonsėklius rapsus.

Būtent jų sėklose susikaupia daugiau riebalų, baltymų, aminorūgščių, mažiau ląstelienos, celiuliozės ir taninų, to pasakoje padidėja rapsų vertė.

1.4 Rapsų kokybę įtakojantys veiksniai

Rapsai pasižymi labai dideliu maisto medžiagų poreikiu, neretai daug didesniu negu jų gali būti dirvožemyje, todėl tik tinkamai naudojant trąšas galima užauginti optimalų derlių [37]. Vienai tonai rapsų sėklų užauginti vasariniai rapsai sunaudoja vidutiniškai 55 kg azoto. Azotas yra būtinas baltymų ir nukleorūgščių formavimosi procese, kuriame ir sunaudojama daugiausiai šio rapsų pasisavinto elemento. Literatūroje išsamiai aprašyta azoto trąšų įtaka riebalų ir žaliųjų baltymų kiekiui rapsų sėklose [38]. Augalai mineralines medžiagas geriau pasisavina, jei trąšose jos yra kompleksuose su organinėmis rūgštimis ir kitais organiniais junginiais.

Optimaliam rapsų derliui užauginti be pagrindinių maisto medžiagų būtinas nemažas kiekis sieros [22]. Rapsų vegetacijos metu paaiškėjus, kad trūksta sieros, pasėliai ne vėliau kaip iki žydėjimo pradžios tręšiami amonio sulfato tirpalu. Rapsų poreikis sierai didelis, vienai tonai rapsų sėklų užauginti reikia 16 kg sieros.

Rapsai – jūrinio klimato augalai, priklausantys prie reiklesnių drėgmei augalų [38]. Optimalus kritulių kiekis, rapsams turi būti 600–700 mm per metus. Trūkstant drėgmės rapsai ląstelių citoplazmoje kaupia organinius osmolitus (osmoprotektorius), slopinančius vandens praradimą. Šių medžiagų sudėtyje yra K^+ , Na^+ ir Cl^- jonai ar azoto turintys organiniai junginiai, kaip prolinas ar kitos amino rūgštys bei glicinas-betainas (Gly-Bet). Osmolitų dėka stabilizuojamos membranos ir palaikoma tam tikra baltymų struktūra. Osmolitų sintezę ir jų kaupimąsi nulemia ne tik augalo rūšis, bet ir veislė. Jie ne tik reguliuoja osmosą, bet ir dalyvauja deguonies apykaitoje.

Įvairios rapsų ligos ir kenkėjai gali labai sumažinti rapsų derlių [36]. Rapsų žaliosios masės ir sėklų derlius labiausiai sumažėja dėl kenkėjo – kopūstinio amaro (*Brevicoryne brassicae*), kuris turi fermentą mirozinazę. Kopūstinis amaras platina įvairias virusines ligas. Lervos išsivysto per 10–15 dienų ir per metus gali būti daugiau nei 16 vadų.

Infekcines ligas sukelia virusai, bakterijos, mikoplazmos, bet daugiausiai – grybai. Augalų pasėliuose paplitusios virusinės ligos (rapsų geltonosios mozaikos virusas, kopūstų nekrozės virusas, rapsų mozaikos virusas ir kt.) ir mikoplazminė liga, kurią sukelia mikoplazmos. Rapsai (*Brassica napus L.*) šia liga serga dažnai. Vietoje rapsų žiedų ir ankštarių susidaro žali dariniai. Mikoplazmų sužaloti augalai neužaugina sėklų. Literatūroje minima, kad pagrindinis infekcijos šaltinis – baltieji dobilai, ligos pernešėjai – cikados ir čiulpiantieji kenkėjai, kurie su augalo sultimis perneša ligas ant rapsų.

Grybinės rapsų ligos, priklausomai nuo to, ant kurios augalo dalies išplitusios, skirstomos į daigų, lapų, stiebų, ankštarių ir sėklų ligas (1.3 lentelė) [36]. Lietuvoje daugiausiai rapsus pažeidžia pilkasis ir baltasis puviniai, netikroji miltligė, juodoji dėmėtligė, diegavirtė, fomozė, šaknų gumbas.

1.3 lentelė. Grybinių ligų klasifikacija [36]

Daigų ligos	Lapų ligos	Stiebų ligos	Šaknų ir pašaknio ligos	Ankštarių ligos	Sėklų ligos
Diegavirtė	Alternariozė	Alternariozė	Verticiliozė	Alternariozė	Alternariozė
Netikroji miltligė	Fomozė	Fomozė	Fomozė	Pilkasis puvinys	Pilkasis puvinys
Fomozė	Netikroji miltligė Miltligė	Sklerotinis puvinys Pilkasis puvinys		Fomozė Sklerotinis puvinys	Fomozė

Taigi taikant tręšimo ir apsaugos technologijas galima pasiekti norimą rapsų pasėlių derlingumą.

1.5 Baltyminės odų pramonės atliekos

Odos apdorojimo/išdirbimo metu susidaro didelis kiekis kietųjų ir skystųjų atliekų, taip pat jaučiamas nemalonus kvapas, atsirandantis skylant baltyminėms odą sudarančioms medžiagoms ir dėl gamybos metu naudojamų cheminių medžiagų [39]. Įvairių formų atliekos ir jų kiekis, susidarantis išdirbant odas ir kailius, turi neigiamą poveikį aplinkai.

1.6 Baltyminės odų pramonės atliekų sudėtis

Pagrindinis odų pramonės tikslas yra „transformuoti“ gyvūnų kailius ir odas į fiziškai ir chemiškai stabilius junginius, naudojant nuoseklius cheminius ir mechaninius procesus ir taip gauti įvairius produktus tenkinančius žmonių poreikius [40]. Odų išdirbimo pramonė kailius ir odas naudoja kaip žaliavą, kuri yra šalutinis produktas (atlieka) mėsos ir mėsos perdirbimo pramonėje. Šiuo atžvilgiu ji galėtų būti priskiriama kaip draugiška aplinkai, nes perdirba susidarantį atliekas. Tačiau odų išdirbimas yra viena iš labiausiai aplinką teršiančių pramonės šakų.

Norint išdirbti skirtingų žaliavų odą (karvės, kiaulės, avies, ožkos ir t.t.) naudojami skirtingi procesai ir cheminės medžiagos [40]. Todėl atliekos susidarantios skirtingų procesų metu turi nevienodą sudėtį. Įvairovė ir kietųjų atliekų kiekis priklauso taip pat nuo gyvūnų

auginimo ir laikymo sąlygų. Pasaulio maisto ir žemės ūkio organizacijos (FAO) duomenimis odų pramonės perdirbimo metu maždaug 8,5 milijono tonų kietųjų atliekų gaunama iš 11 milijonų tonų produkcijos. Kietosios atliekos (1.4 pav.), gaunamos išdirbimo procesų metu (procesai iki šikšninimo, šikšninimo ir apdailos procesai) gali būti suskirstytos taip:

- nešikšnintų kailių/odų (nuopjovos, mėzdros);
- šikšnintų odų (drožlės, poliravimo dulkės);
- dažytos ir išdirbtos odos – šikšnos (atraižos, nuopjovos).



a



b



c



d

1.4 pav. Kietosios odos atliekos: **a** – nuopjovos; **b** – mėzdros; **c** – chrominto pusgaminio drožlės; **d** – chrominto pusgaminio drožlės ir atraižos.

Baltyminės atliekos yra: odos nuopjovos, mėzdros, chromuotos drožlės ir keratininės atliekos. Šios atliekos taip pat dar gali būti suskirstytos į šikšnintas ir nešikšnintas [40]. Odos išdirbimo metu iš 1000 kg žalios odos gaunama 850 kg kietų atliekų ir tik 150 kg išdirbtos odos. Didesnė dalis atliekų yra išvežama į sąvartynus ir užkasamos. Bet vis labiau pasaulyje ieškoma perdirbimo būdų, siekiant gauti aukštesnės vertės produktą. Odų pramonės atliekos 90–95% sudarytos iš baltymų, o kolageno stambiųjų galvijų odose yra apie 30 procentų. Baltyminių odų pramonės atliekų sudėtis gali skirtis priklausomai nuo žaliavos ir apdorojimo būdo.

H. Ozgunay ir kt. autorių darbe buvo nustatoma nekalkintų, kalkintų mėzdros, nuopjovų ir drožlių sudėtis, kurios gautos išdirbant avių, ir ožkų odas [39]. Gauti rezultatai parodė, kad nekalkintų mėzdros drėgnis yra 5-59 %, kalkintų mėzdros – 57-83 %, drožlių – 45-66 %, o nuopjovų apie 6-9%.

Riebalų kiekis odoje taip pat svyruoja ir priklauso nuo žaliavos: 0,5-4 % galvijų ir arklių odose, 3-30 % avių, 4-40 % kiaulių ir 3-10% ožkų [41]. Riebalų kiekis atliekose, taip pat priklauso nuo odų išdirbimo technologijos ir galutinės išdirbtos odos paskirties t.y. nuo odų įriebinimo ir nuriebinimo procesų.

Azoto kiekis kietų odų atliekose nurodo bendrą baltymų kiekį juose [42]. Nustatyta, kad mėzdras sudaro nuo 6-34 % azoto. Taip yra dėl to, kad šios atliekos yra gaunamos šalinant poodį, kuriame gausu riebalų ir yra sąlyginai nedaug baltymų, o didžiausias kiekis azoto (64 %) yra chromintose drožlėse.

Didžiausias chromo kiekis yra atliekose, kurios susidaro šikšninimo proceso metu, kur chromo druskos naudojamos kaip šikšninanti medžiaga [43, 44]. Chromas turi du svarbius oksidacijos laipsnius: trivalentį (III) ir šešiavalentį (VI). Trivalentis chromas yra mažiau toksiškas (nedidelis jo kiekis svarbus biologiniam aktyvumui), nei šešiavalentis. Po chrominimo proceso odų atliekose paprastai yra tik trivalenčio chromo, tačiau jis gali oksiduotis į šešiavalentį, todėl chromo turinčios atliekos yra didelė problema. Daug mokslininkų jau seniai ieško būdų kuo galima būtų pakeisti šikšninimo procese naudojamas chromo druskas. Tačiau šiuo metu apie 90 % kailių ir odų pasaulyje yra išdirbamos naudojant chromo druskas, nes tik taip gaunamas aukštas šikšnų hidroterminis stabilumas.

Geležies kiekis atliekose paprastai nėra labai didelis [44]. Pavyzdžiui, geležies dulkių atsiranda nuo peilių naudojamų odą skeliant arba poliravimo metu. O didelis kalcio junginių kiekis aptinkamas mėzdrose, jis susidaro dėl kalkinimo metu naudojamų kalcio hidroksido. Natrio kiekį atliekose gali lemti daugybė faktorių. Jis susidaro naudojant išdirbimo metu natrio chloridą arba natrio sulfatą.

Druskos, naudojamos išdirbant įvairių rūšių šikšną yra labai įvairios, todėl jų kiekis odų pramonės atliekose gali labai skirtis priklausomai nuo išdirbimo technologijos.

1.7 Baltyminių odos pramonės atliekų utilizavimo galimybės

Odų išdirbimo pramonė viena iš seniausių [45]. Per šimtmečius, oda buvo viena iš nedaugelio turimų medžiagų, pasižyminti dideliu patvarumu ir naudojama drabužių ir avalynės gamybai. Šiandien įvairios sintetinės odos vis dar yra vienos iš pirmaujančių medžiagų drabužių ir avalynės gamybai dėl savo unikalių savybių.

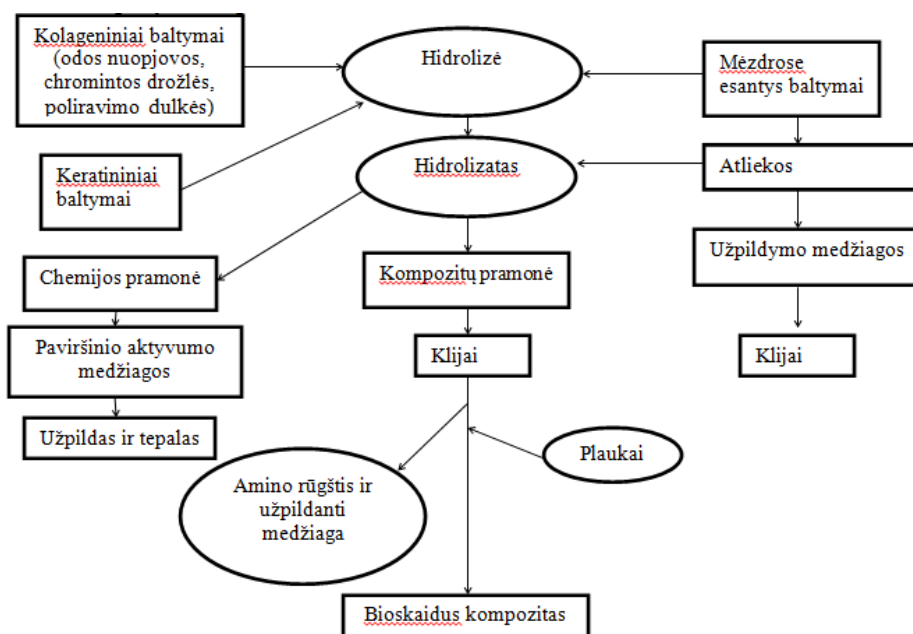
Gyvūninės kilmės produktai, kaip oda, vilna, šeriai, ragai, plunksnos, kanopos, ir t.t, yra svarbūs šalutiniai produktai gyvulių, mėsos ir kitose pramonės šakose [43]. Yra sukuriama daug vertingų produktų iš šių atliekų. Jų sudėtyje yra daug fibrilinių baltymų, tokių kaip keratinas ar kolagenas.

Nešikšnintos baltyminės odų atliekos naudojamas kaip žaliava klijams, želatinai, pramoniniams riebalams, baltyminiams apvalkalams, pašarams ir trašoms gaminti. Šios atliekos taip pat tinka kaip substratas biodujų gamyboje. 1.4 lentelėje yra pateikiami kai kurie produktai, kurie gali būti gauti iš tam tikrų baltyminių odos atliekų bei jų taikymo sritis.

1.4 lentelė Produktai gauti iš mėzdrių ir jų taikymas [43].

Gautas produktas	Taikymas
Baltymai	Baltyminiai pašarai, biologinės trąšos, dešrų arba dešrelių apvalkalai, galvijų ir paukščių pašarai, biodujos, biodyzelinas
Kolageniniai hidrolizatai	Klijai, valgomoji želatina
Polipeptidai	Kosmetika, chemijos pramonė
Klijai /želatina	Rišančios medžiagos, užpildymo agentai

Viena iš utilizavimo alternatyvų yra rūgštinė arba fermentinė hidrolizė (1.5 pav.), kuomet iš atliekų yra gaunami baltymų hidrolizatai, kurių sudėtyje yra vertingų peptidų ir aminorūgščių, kurios gali turėti įvairų taikymą [47].



1.5 pav. Kietų atliekų utilizavimo schema [47]

Iš odų atliekų gauti hidrolizatai – vertingas baltymų šaltinis [46]. Jie gali būti naudojami kaip priedai gaminat trąšas, biologiškai skaidžius polimerus ir priedus skirtus kosmetikos, statybinių medžiagų pramonei. Buvo nustatyta chromo neturinčių baltyminių priedų, kuriems gauti naudojama fermentinė hidrolizė, teigiama įtaka lapų, vaisių ir daržovių augimui.

Kolagenas pasižymi ypatingu gebėjimu sulaikyti vandenį [49]. Dėl šios savybės sulaukia didžiulio tyrėjų dėmesio, siekiant jį pritaikyti biotechnologijų, biomedicinos inžinerijos ir medžiagų statybos srityse. Kolageno dispersijos, pagamintos iš fibrilinio susmulkinto jaučio kolageno, parodė gerus rezultatus frakcionavime. Nešikšnintos odų atliekos buvo naudojamos kaip žaliava kolageno hidrolizatams gauti. Ištirtas baltymų hidrolizatų iš veršiuko odos ir kraujo

tinkamumas peptonų bakterijų augimui [46] Šiuo metu jau yra sukurtų sėklų beicavimo būdų naudojant kolageno hidrolizatą, tačiau jie nėra pritaikyti gamyboje ir neturi komercinės paskirties [44]. 2012 metais buvo patentuotas negrižtamai denatūruotos želatinos panaudojimas sėklų dangai gauti. Autoriai pastebėjo, kad želatinos danga neturi augalų augimą skatinančio poveikio, o tai reiškia, kad būtinas didesnis želatinos hidrolizės laipsnis, kuomet suskaldoma iki polipetidų ar laisvų aminorūgščių, kurias augalas gali įsisavinti geriau [45]. Tokia danga tinka visų tipų augalų vegetacinėms formoms: sėklai, sporoms, embrionui, kaliui ar meristemoms.

Taip pat kolageno pagrindu pagamintos biomedžiagos naudojamos medicinoje: audinių klėjai, kraujagyslių transplantantai, aortos, širdies vožtuvų, vaistų pristatymo matricos, žaizdų tvarsčiai [46]. Nors kolagenas yra pripažinta kaip perspektyvi medžiaga, išlieka susirūpinimas dėl jo stabilumo veikiant fermentams ir mažo mechaninio stiprumo *in Vivo*.

Kiaulių oda yra panaši į žmogaus, todėl ji gali būti naudojama mediciniais tikslais [46]. Produktai, pagaminti iš odos išgauto kolageno, gali skatinti kraujo krešėjimą chirurginės operacijos metu. Gali būti naudojami kaip tvarstis nudegimams, opoms gydyti, protezų gamyboje, rekonstruojant pažeistą jungiamąjį audinį (odos, kaulo, šlapimo pūslės, pilvo sienelės). Kolagenas taikomas farmakologiškai kaip narkotinių medžiagų pernešėjas/nešėjas ir gali padėti imobilizuoti fermentams [47]. Tirpioje formoje jis gali būti naudojamas kaip plazmos užpildas.

Nekalkintos galvijų dermos nuopjovos naudojamos dešrų arba dešrelių apvalkalams gaminti [46]. Taip pat daugelyje pasaulio šalių kolagenas naudojamas kaip mėsos pakaitalas. Jungtinėse Amerikos Valstijose, vienintelis žinomas maistui naudojamas kolagenas yra skrudinta kiaulės oda, kuri yra parduodama kaip užkandis, kuriam pagaminti gali būti sunaudota iki 3-4 milijonų ekvivalentų per metus kiaulių odų. Taip pat tokios odų atliekos gali būti naudojamos naminių gyvūnų pašarui gaminti.

Ultragarsas yra dar viena švari technologija, kurią siūloma taikyti perdirbant odos išdirbimo pramonės atliekas [48]. Pastaraisiais dešimtmečiais, ultragarso naudojimas cheminiuose ir fizikiniuose procesuose tapo itin svarbus pramonėje, kaip labai veiksmingas ir aplinkos neteršiantis metodas. Mokslininkai nustatė, kad ultragarsas gali pagreitinti baltyminių atliekų fermentinę hidrolizę. Todėl fermentų ir ultragarso derinys yra perspektyvi švari technologija siekiant perdirbti baltymines odų pramonės atliekas.

Šikšninimas – plikės ar pusgaminio kailiams apdorojimas neorganinėmis ir (ar) organinėmis šikšninančiomis medžiagomis [42]. Šikšninimui naudojami neorganiniai (chromo, aliuminio, titano, geležies, cirkonio ir kt. bazinės druskos bei polirūgštys) ir organiniai (tanidai, sintanai, aldehidai, nesotūs riebalai, amino dervos ir kt.) junginiai.

Šikšninimas yra sudėtingas procesas ir nėra visapusiško susidarančių atliekų utilizavimo būdo [43]. Šikšnintos odos atliekos gali būti naudojamos kaip antrinė žaliava odos gaminių gamyboje. Nepaisant to, dėl ekonominių priežasčių dažnai lieka nepanaudotų atliekų, kurios patenka į sąvartynus.

Atliekų užkasimas į žemę yra mažiausiai palankus atliekų tvarkymo būdas [43]. Atliekų sąvartynai kelia rimtą grėsmę aplinkai. Biologiškai yrant nešikšnintoms atliekoms gali atsirasti patogeninių bakterijų ir susidaryti lakūs organiniai junginiai. Šikšnintų atliekų sudėtyje yra iki 4,5 % chromo junginių, kurie daugiausia yra neoksiduotoje formoje, kuri žinoma kaip netoksiška. Vis dėlto gali vykti tolimesnė tokių junginių oksidacija iki Cr^{6+} , kuri jau turi kancerogeninių savybių. 1.5 lentelėje yra pateikiami kai kurie produktai, kurie gali būti gauti iš tam tikrų baltyminių odos atliekų bei jų taikymo sritis.

1.5 lentelė Produktai gaunami iš šikšnintų odos atliekų bei jų taikymas [46].

Gautas produktas	Taikymas
Kolagenas	Rišančioji medžiaga, valgomieji dešrų arba dešrelių apvalkalai, narkotinių medžiagų nešiklis, mėsos pakaitalas
Kolageniniai geliai	Narkotinių medžiagų nešikliai, tvarsčiai sužeidimams
Kolageninės dispersijos	Biomedicinoje
Kolageniniai hidrolizatai	Biostimulatoriai, pakavimo medžiagos, biologiškai skaidūs polimerai, trąšos, kosmetika, statybinės medžiagos
Kolageniniai pluoštai	Absorbuojančios medžiagos, popieriaus gamyba
Želatina	Fotografija, plovikliai

Šikšnintos odų atliekos gali būti utilizuojamos deginant [43]. Tokių atliekų sudėtyje yra organinių medžiagų ir jų energetinė vertė yra pakankamai didelė, todėl jos gali būti naudojamos kaip kuras. Tačiau susiduriama su problema – dideliu drėgmės kiekiu, kuris gali būti apie 60 %, priklausomai nuo atliekų rūšies. Pelenų kiekis yra palyginti mažas apie 4-8%. Tyrimai parodė, kad pelenai, kuriuose yra chromo junginių gali būti naudojami kaip chromo rūdų pakaitalas chromo (VI) gamyboje. Susidarančių degimo produktų kiekis iš įvairių odų pramonės atliekų parodytas 1.6 lentelėje.

1.6 lentelė. Odų pramonės atliekų deginimo metu susidarančių produktų kiekis [43]

Atliekų rūšis	Bendras organinių medžiagų kiekis, %	Drėgnis, %	Pelenų kiekis, %	Šiluma, kJ/kg
Drožlės	87,5	53,6	7,8	6663
Dumblas	65,5	54,7	24,3	716
Poliravimo dulksės	87,4	14,3	6,2	16953
Odos atraižos	87,7	10,2	4,7	19772
Plikės nuopjovos	86,9	59,9	4,7	7753
Mėzdras	91,4	59,5	4,6	8952

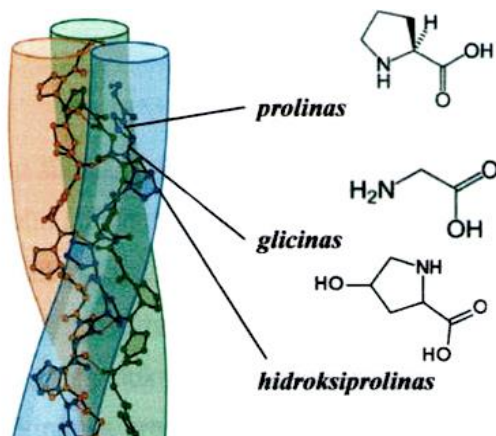
Deginimas turėtų būti vykdomas etapais. Pirmiausia išgarinamas vanduo, tada kai vanduo pašalintas, temperatūra laipsniškai didinama ir pradedamas degimas [43]. Degimo temperatūra turi būti pakankamai aukšta, t.y. 850-900 °C. Tai itin svarbu, kad kai deginimas yra baigtas, likusios nesudegusios medžiagos būtų pelenų pavidalu. Taigi, visos kietos baltyminės odų pramonės atliekos gali būti utilizuojamos deginant. Dumblas dėl savo žemos šiluminės vertės, gali būti maišomas su kitomis atliekomis.

Krokvos technologijos universiteto chemijos inžinerijos ir technologijos fakultete buvo pasiūlytas šikšnintų atliekų deginimo būdas tunelinėje krosnyje [43]. Pirmiausia, atliekos įdedamos į specialius plokščius konteinerius, tada jie įstumiami į tunelinę krosnį. Krosnyje reguliuojant temperatūrą ir laiką atskirose zonose, deginimo procesas yra nesudėtingai kontroliuojamas.

Vis dėl to dėl didelių kiekių ir savo specifinių savybių, šikšnintos odų išdirbimo pramonės atliekos yra rimta aplinkosauginė problema. Jų gabenimas į sąvartynus neišsprendžia šios problemos. Tinkamas perdirbimas atliekų sumažina ne tik neigiamą sąvartynų poveikį aplinkai, bet ir atneša naudos, pavyzdžiui, energijos. Degimo procesas leidžia kokybiškai utilizuoti visas kietas šikšnintas odos išdirbimo pramonės atliekas. Kadangi šių atliekų sudėtyje daugiausiai yra organinių medžiagų, jos gali būti panaudotos minėtame procese. Tunelinė krosnis galėtų būti tinkama įgyvendinant tokių atliekų deginimą.

1.8 Kolageno hidrolizatų gavimas terminės ir fermentinės hidrolizės būdais

Pagrindinis kolageninių peptidų šaltinis yra galvijų, kiaulių, žuvų oda ir jų kaulai [47]. Odos derma sudaryta iš sudėtingos kolageninių, elastinių ir retikulinių plaušelių pynės [50]. Tarp dermos plaušelių yra liaukos, kraujo indai, plaukų krepšeliai, nervai, raumenys ir tarpluoštinė medžiaga. Pagrindiniai odos dermą sudarantys plaušeliai yra kolageniniai plaušeliai. Kolageno sandaroje dominuoja trys amino rūgštys: glicinas (30 %), prolinas (15 %), hidroksiprolinas (13 %), taip pat yra nedidelis kiekis arginino, asparagino, gliutamino, lizino ir kt. Prolinas ir hidroksiprolinas erdvėje užima sau palankesnę padėtį, priversdami visą kolageno grandinę pasisukti. Tokiu būdu šios dvi amino rūgštys nulemia kolageno grandinės spiralinę struktūrą. Kolageno spiralinė grandinė vandenilniais ryšiais jungiasi su kita identiška grandine, o ši su trečiąja, besiskiriančia nuo pirmųjų tik kitokiu amino rūgščių išsidėstymu. Tokiu būdu gaunamas spiralinis kolageno tripletas (1.6 pav.), susidėdantis iš trijų spiralinių baltymo grandžių. Tokios trys susipynusios kolageno grandinės vadinamos tropokolagenu, kurio molekulinė masė yra apie 285kDa.[36].



1.6 pav. Kolageno trispiralinė spiralė

Elektroninės mikroskopijos ir rentgeno struktūrinės analizės duomenimis parodyta, kad tropokolageno molekulė yra pailgo stulpelio formos [48]. Ši molekulė yra vienas iš ilgiausių žinomų baltymų. Kiekviena iš trijų polipeptidinių grandinių sudaro spiralę, kuri skiriasi nuo klasikinės spiralės. Polipeptidinės grandinės sukasi viena apie kitą (dešinio sukimo spiralė), taip susidaro trigubos superspiralės struktūra. Grandinės tarpusavyje sudaro vandenilinius ryšius ir išsidėsto viena kitos atžvilgiu taip, kad tarpuose atsideria glicinas (turintis mažiausią R), tai leidžia spiralėms susipakuoti glaudžiausiu būdu. Kolageno skaidulos stabilizuojamos ir kovalentinių ryšių, kurie susidaro tarp skirtingų tropokolageno molekulių lizino ir hidroksilizino grupių. Taip sutvirtinta triguba „superspiralė“ suteikia kolagenui ypatingą mechaninį tvirtumą. Tropokolageno molekulės tvarkingai išsidėstydamos sudaro kolageno skaidulas. Viena 1mm skersmens kolageno skaidula gali išlaikyti 10 kg svorį.

Kolageno hidrolizatai yra gaunami vykdant kontroliuojamą hidrolizės procesą, kurios metu gaunami tirpūs peptidai [42]. Glicino ir prolino tokiam hidrolizate yra 20 kartų daugiau nei bet kokiame kitame šaltinyje (žaliavoje). Tradiciškai odos atliekos apdorojamos termiškai: aukštoje temperatūroje ir užima daug laiko. Alternatyva terminiam procesui yra fermentinė hidrolizė. Ji daugiau palanki, kalbant apie aplinkos apsaugą: nėra reikalingos jokios kitos cheminės medžiagos ir gali būti atliekama žemoje temperatūroje. Be to gauti hidrolizės produktai gali būti panaudojami.

Hidrolizatai gali būti analizuojami nustatant osmoliariškumą, hidrolizės laipsnį, molekulinės masės pasiskirstymą, bendro azoto kiekį, aminorūgščių sudėtį ir toksiškus junginius, pavyzdžiui, biogeninius aminus arba ligų sukėlėjus. Baltymų hidrolizatų kokybinė analizė gali būti atliekama naudojant šiuos metodus: spektrofotometriją, chromatografiją ir elektroforezę (UVa, HPLC, SDS-PAGE).

Atliekant fermentinę hidrolizę žaliava yra plaunama, homogenizuojama ir šalinamos druskos su atskiesta mineraline rūgštimi ar šarmu [42]. Ji yra ekstrahuojama keliais etapais šiltu vandeniu. Galutinis fermentinės ar terminės hidrolizės produktas – želatina, kuri yra kolageno hidrolizatas. Kolageno hidrolizatai skiriasi peptidų molekuline mase, kuri svyruoja nuo 2 iki 6 kDa. Po išgryninimo, produktas yra koncentruojamas ir džiovinamas. Dažniausiai po džiovinimo atliekamos procedūros yra susijusios su molekulių dydžiu, siekiant pašalinti aukštos molekulinės masės peptidus ir baltymus gautame hidrolizate. Efektyviausiai pašalinami vykdant – ultrafiltravimą.

Mokslininkai Wang ir kt. savo darbe tyrė terminės ir fermentinės hidrolizės būdu gautų kolageninių hidrolizatų iš Tilapia žuvies odos panašumus ir skirtumus [51]. Buvo siekiama nustatyti, kuris hidrolizės būdas efektyvesnis. Terminė hidrolizė atlikta sumaišant vandenį ir odą santykiu 1:2 (m/m), esant trim skirtingom pH vertėms: vandens (pH – 6,5) ir buferio (pH – 4 ar 9) ir 121 °C temperatūroje 3 val. Fermentinė hidrolizė vykdyta 50 °C temperatūroje 30 min. ir 15 min. naudojant tris skirtingus proteolitinius fermentus: 894 šarminę proteazę (pH – 10), šarminę proteazę (pH – 8) ir papainą (pH – 6), pridedant skirtingus buferius. Odos ir buferio santykis 2:1 (m/m), odos ir fermentų santykis – 300 akt. vnt. proteazės/1 g atšildytos Tilapia žuvies odos. Buvo nustatomi šie parametrai: vidutinė molekulinė masė, antioksidacinis aktyvumas naudojant 1,1-difenilo-2-picrillhidrazilo (DPPH) laisvųjų radikalų metodą, hidrolizato išeiga ir baltymų kiekis hidrolizate. Buvo nustatyta, kad terminės hidrolizės būdu priklausomai nuo pH vertės, galima gauti peptidus, kurių vidutinė molekulinė masė yra didesnė kaip 3000 Da, o naudojant proteazių derinius galima kontroliuoti molekulinės masės pasiskirstymą. Fermentinei hidrolizei reikalingas trumpesnis laikas, švelnesnės sąlygos, nors baltymų kiekis, DPPH gautos vertės panašios abiejų procesų metu. Taigi, buvo padaryta išvada, kad fermentinė hidrolizė yra efektyvesnė nei terminė.

Sundar V. J. ir kt. analizavo fermentų poveikį hidrolizės eigai [43]. Odos atraižos buvo hidrolizinamos naudojant du skirtingus proteolitinius fermentus: papainą ir neutrazę. Buvo nustatyta, kad optimalios hidrolizės sąlygos, kuomet gaunama didžiausia baltymų išeiga, buvo esant temperatūrai – 70 °C ir terpės pH vertei 6-7, bei esant t – 40-50 °C ir terpės pH 6-7. Hidrolizės produktas, naudojant papaino fermentą, yra želatina, kurios stipris ir klampa yra maži, o naudojant neutrazę produktas – kolageno hidrolizatas su nedidele klampa. Taigi, naudojant skirtingus fermentus odos hidrolizė vyksta nevienodai.

Kumaraguru S. ir kt. atliko tyrimą, kurio metu odos mėzdros buvo hidrolizuojamos naudojant kasos fermentus, siekiant sukurti kuo paprastesnį būdą kietoms atliekoms tvarkyti [52]. Bendras baltymų kiekis, kolageno ir laisvųjų riebalų rūgščių hidrolizate buvo 80,0, 10,64 ir

72.86 mg/ml priklausomai nuo kasos fermentų. Optimaliausia fermento veikimo pH vertė buvo 8,5. Taigi, kasos fermentai puikiai tinka vykdant odos mėzdrių hidrolizę.

1.9 Kolageno hidrolizatų panaudojimas žemės ūkyje

Tokios gyvūninės kilmės atliekos kaip oda, vilna, šeriai, ragai, plunksnos, kanopos ir pan., kurios gaunamos iš mėsos, odos ir kitų pramonės šakų netinkamai utilizuojamos gali kelti pavojų aplinkai. Tačiau šios atliekos gali būti laikomos potencialiomis žaliavomis organinių trąšų gamyboje [53]. Europos Sąjungoje, visi gyvūninės kilmės produktai turi būti tinkamai apdorojami, kad nebūtų sukeliama rizika perduoti galvijų ligą – kaulų spongiforminę encefalopatiją (Komisijos sprendimas, 2001/9). Todėl atliekos turi būti apdorojamos šarminėje terpėje (pH > 11), esant >0,36 MPa slėgiui ir temperatūrai > 140 °C; tokiomis sąlygomis gautuose hidrolizatuose peptidų molekulinė masė <10 kDa.

Mėzdras yra lengvai yrančios atliekos, sudarančios 10-15% nuo žaliavos ir gali būti laikomos ekologiškais azotu praturtintomis trąšomis, kurių sudėtyje yra apie 15 % azoto, kuris yra lėtai atpalaiduojamas dirvožemio mikroorganizmų [54].

Terminiu, fermentiniu arba cheminiu būdais (naudojant stiprias rūgštis ar šarmus) gauti baltymų hidrolizatai iš gyvulininkystės atliekų, ypač odos yra tinkami kaip organinė trąša žemės ūkyje. Tačiau priklausomai nuo pasirinkto atliekų hidrolizės būdo, gaunamos skirtingos sudėties hidrolizatai. Terminės hidrolizės būdu žaliava turi būti apdorojama 90-140 °C, 36 val., palaikant pastovią pH vertę, papildomai nenaudojant jokių cheminių medžiagų. Terminiu būdu paprastai gaunami ilgesnių grandinių peptidai, kurių „prieinamumas“ augalams yra ribotas. Fermentinės hidrolizės būdu gauti polipeptidų mišiniai yra lengviau įsisavinami augalų.

Naudojant cheminę hidrolizę žaliava yra apdorojama 80-100 °C temperatūroje, kelias valandas, naudojant, pavyzdžiui, sieros rūgštį arba kalcio hidroksidą ir hidrolizė pabaigiama „sušvelninant“ pH vertę iki 7. Rūgštinės hidrolizės būdą kaip gauti baltymus iš odos, kaulų ir kremzlių atliekų naudojant fosforo rūgštį sukūrė Chakarska ir kt. [55]. Rūgštinė hidrolizė, yra labai efektyvi gaminant hidrolizatus, kai siekiama gauti L-aminorūgštis ir D-aminorūgštis. Tačiau neseniai atliktas tyrimas parodė, kad tokių aminorūgščių gavimas nepriklauso nuo hidrolizės procedūros. Nors augalai yra pajėgūs absorbuoti tiek D-, tiek L-aminorūgštis, o D-aminorūgštys yra pasirenkamos dėl geresnio jų augalų įsisavinimo.

Šarminė hidrolizė yra panaši į rūgštinę, tačiau yra mažiau veiksminga, nebent kombinuojant ją su terminiu apdorojimu [56]. Fermentinės hidrolizės būdu, žaliava apdorojama vandeniui 40-55 °C temperatūroje kelias valandas, naudojant skirtingos kilmės proteolitinius

fermentus. Fermentinės hidrolizės būdu gaunami homogeniniai polipeptidų mišiniai, kuriuos augalai gerai pasisavina.

Laisvų aminorūgščių kiekis iš kolageno hidrolizato gautose trąšose svyruoja nuo 5 iki 40 % [57]. Glicinas yra labiausiai paplitusi aminorūgštis, kuri sudaro apie 26-50 % visų hidrolizate esančių aminorūgščių. Taip pat tokiose hidrolizatuose yra didelis kiekis prolino, hidroksiprolino, ornitino ir glutamino. Kai trąšos gautos iš kolageno hidrolizato patenka į dirvožemį, tik apie 5 % didesnės molekulinės masės baltymų yra tiesiogiai absorbuojami augalo šaknų, o likusi dalis medžiagų metabolizuojamos dirvožemio mikroorganizmų ir tik tada tampa prieinamos augalams. Buvo įrodyta, kad augalas gali įsisavinti ir be mikroorganizmų metabolizmo, kai kuriuos ilgos grandinės baltymus ir aminorūgštis. Be to, mikoriziniai grybai, kurių natūraliai yra dirvožemyje, gali įsisavinti tokius junginius ir perduoti juos augalams prieinama forma [58]. Buvo nustatyta, kad kolageno hidrolizatuose esantys peptidai gauti naudojant cheminę ar cheminę-fermentinę hidrolizę yra veiksmingi augimo stimulatoriai ir augalų metabolizmo biostimuliatoriai, kurie turi įtakos augalų lapų ir vaisių formavime. O kolageno hidrolizate, esančios aminorūgštys tokios kaip prolinas ir hidroksiprolinas padidina augalų atsparumą net esant itin nepalankioms klimato sąlygomis. Alaninas, valinas, leucinas pagerina vaisių kokybę, o kai kurios aminorūgštys turi chelatinį efektą, kuris palengvina mikroelementų absorbciją ir transportavimą augaluose.

Baltymines žuvies pramonės atliekas (kaulus, odą) lengva hidrolizuoti ir gauti bioaktyvius peptidus [59]. Yra nustatyta, jog peptidai gauti iš tam tikrų žuvų odos ir kaulų pasižymi antioksidaciniu, antibakteriniu, antimutageniniu aktyvumu. Todėl naudojami trąšose gali padidinti augalų derlių.

Yra daug produktų ir eksperimentinių duomenų, kai trąšų pagrindu naudojami kalio, amonio fosfatai su baltymų hidrolizatais ir pasiekiamas aukštos kokybės derlius [60]. Žinoma, jog naudojant tokius mikroelementus kaip geležį, varį, cinką, kalcį, magnį ir manganą, kurie yra chelatinėje formoje su baltymų hidrolizatais paskatinama lengvesnė augalų asimiliacija. Be to, baltymų hidrolizatų ir kalio polifosfatų mišiniai padidina fosforo ir kalio absorbciją. Teigiamą poveikį augalų derliui turi visi baltymų hidrolizatai, kuriuose yra polipeptidų, peptidų ir aminorūgščių: alanino, arginino, glicino, hidroksiprolino ir kt. Hidrolizatuose esančių azotą augalai gali lengviau įsisavinti nei iš kitų šaltinių. Sirbu C. ir kiti bendraautoriai tyrė kompleksinių trąšų, susidedančių iš $K_2O:P_2O_5$: kolageno hidrolizato (1:1:1) poveikį dviem augalinėm kultūrom: sojom ir saulėgražom. Buvo nustatyta, jog tokios trąšos stimuliuoja augalų augimą.

Gaidau C. ir kt. bendraautoriai savo darbe aprašo kolageno hidrolizato pagrindu pagrįstą javų sėklų apdorojimo būdą [61]. Tirti pesticidų ir kolageno hidrolizatų mišiniai norint padidinti

sėklų derlių ir taip pat sumažinti pesticidų vartojimą, o tai savo ruožtu leistų sumažinti aplinkos taršą ir javų auginimo išlaidas.

Apibendrinant galima būtų teigti, kad kolageno hidrolizatų naudojimas žemės ūkyje yra perspektyvus, o baltyminių atliekų perdirbimas leistų sumažinti jų poveikį aplinkai.

2. METODINĖ DALIS

2.1 Tyrimo objektas, naudotos medžiagos ir apdorojimo metodikos

Darbe naudotos cheminės medžiagos ir jų charakteristikos pateiktos 2.1. lentelėje. Mėzdru nukalkinimo ir odų atmirkymo metodikos pateiktos 2.2. lentelėje.

2.1 lentelė. Tyrimams naudotos medžiagos ir jų charakteristikos

Medžiagos pavadinimas, identifikavimo kodas	Formulė	Gamintojas, grynumas
„Lisora“ veislės rapsų sėklos	-	-
Murashige & Skoog maitinamoji terpė	-	Sigma-Aldrich
Agaras	-	Sigma-Aldrich
Etanolis CAS 64-17-5	C ₂ H ₅ OH	p.a./G.R. 98,0 %
Natrio hipochloritas CAS 7681-52-9	NaClO	Sigma-Aldrich
Karbamidas CAS 57-13-6	(NH ₂) ₂ CO	p.a./G.R. 99,5 %
Natrio šarmas CAS 1310-73-2	NaOH	chemiškai švarus 98,5 %
p-Dimetilaminobenzaldehidą TY6-09-3272-77	(CH ₃) ₂ NC ₆ H ₄ CHO	grynas
Sieros rūgštis CAS 7664-93-9	H ₂ SO ₄	chemiškai gryna 96,0 %
Vandenilio peroksidas CAS 7722-84-1	H ₂ O ₂	p.a./G.R. 29,0-32,0 %
Vario sulfatas CAS 7758-98-7	CuSO ₄ • 5H ₂ O	p.a./G.R. 99,5 %
Amonio sulfatas CAS 7783-20-2	NH ₄ SO ₄	chemiškai grynas 99,5 %
Šarminė proteazė FP OroponON2	-	TFL, Šveicarija
Natrio kazeinatas CAS 9005-46-3	-	chemiškai švarus
<i>L-Tirozinas</i> CAS 60-18-4	O(CC(N)C(=O)O)	chemiškai švarus
Natrio karbonatas CAS 497-19-8	Na ₂ CO ₃	analitiškai grynas 99,0 %
Natrio boratas CAS 215-540-4	Na ₂ B ₄ O ₇	Sigma-Aldrich
Natrio acetatas CAS 127-09-03	CH ₃ COONa	Sigma-Aldrich

Tyrimams naudotos stambių galvijų konservuotos odų atraižos ir mėzdos po plikinkimo-kalkinimo. Eksperimentams naudotos odos atraižos ir mėzdos, supjaustytos į 0,5-1 x 0,5-1 cm dydžio gabalėlius. Odų atraižos prieš vykdant hidrolizę buvo atmirkytos (2.2. lent. A dalis), o mėzdos buvo nukalkintos (2.2. lent. B dalis).

2.2 lentelė. Nukalkinimo ir atmirkymo atlikimo metodika

Proceso pavadinimas	Proceso parametrai			Pastabos
	Medžiagos pavadinimas ir kiekis % nuo odos atraižų (A dalis), mėzdrių (B dalis) masės	t, °C	Trukmė, h	
A dalis				
Plovimas	H ₂ O – 200	19–21	1	Maišoma pastoviai
Atmirkymas	H ₂ O – 160, Na ₂ CO ₃ (100 %) – 1,40	19–21	8,5	Maišoma pastoviai
B dalis				
Nukalkinimas–minkštinimas	H ₂ O – 40, (NH ₄) ₂ SO ₄ (100 %) – 2,2;	35–37	0,5	Maišoma pastoviai
	(NH ₄) ₂ SO ₄ (100 %) – 1,5;		0,5	Maišoma pastoviai
	H ₂ O – 100,		1,0	Maišoma pastoviai
Plovimas	H ₂ O – 200	20-22	0,5	Maišoma pastoviai
	H ₂ O – 200	20-22	0,5	Maišoma pastoviai

Susmulkintos odų atraižos ar/ir mėzdras hidrolizė buvo atlikta pagal 2.3 lentelėje pateiktas metodikas.

2.3 lentelė. Fermentinės ir terminės hidrolizės atlikimo metodika

	Hidrolizės būdas	
	Terminė	Fermentinė
Vandens ir substrato santykis	1:200	1:200
FP <i>OroponON2</i> , % ž.m.	-	2
Temperatūra, °C	90	50
Apdorojimo trukmė, h	2, 4, 24, 48	2, 4, 24, 48

2.2 Bandinių analizės metodai

2.2.1 Drėgnio nustatymas

Drėgniui nustatyti bandiniai džiovinami 105±2 °C temperatūroje iki pastovios masės. Bandinių drėgnis, % paskaičiuojamas pagal formulę:

$$B = \frac{a-b}{a} \times 100, \quad (2.1)$$

Čia: a – pavyzdžio masė prieš džiovinimą, g;

b – pavyzdžio masė po džiovinimo, g.

2.2.2 Pelenų kiekio nustatymas

Išdžiovinti iki pastovios masės susmulkinti bandiniai pasveriami porcelianiniame tiglyje. Pradžioje tiglį su bandiniu atsargiai deginame degiklio liepsnoje leisdami bandiniui suanglėti.

Toliau bandiniai kaitinami iki pastovios masės mufelyje, esant 560 °C temperatūrai. Bendras pelenų kiekis X (%) apskaičiuojamas pagal formulę:

$$X = \frac{a_0 - a}{a}, \quad (2.2)$$

kur: a_0 – pavyzdžio masė prieš deginimą, g;

a – pavyzdžio masė po deginimo, g.

2.2.3 Bendrojo baltymų ir azoto kiekio nustatymas

Azoto kiekis bandiniuose buvo nustatomas titrimetriniu Kjeldalio metodu. Azoto kiekis N , išreikštas g/kg, apskaičiuojamas pagal formulę [62]:

$$N = \frac{(a - a_0) \cdot K \cdot 0,0014}{V} \cdot 1000, \quad (2.4)$$

čia: a – tuščiojo bandinio titravimui sunaudoto 0,1 N natrio šarmo tirpalo tūris, mililitrais;

a_0 – tiriamojo bandinio titravimui sunaudoto 0,1 N natrio šarmo tirpalo tūris, mililitrais;

K – 0,1 mol/l sieros rūgšties tirpalo pataisos koeficientas;

V – tiriamojo bandinio tūris, paimtas analizei, mililitrais.

Bendras baltymų kiekis B (g/kg) apskaičiuojamas pagal formulę skaičiuojant pagal azotą [62]:

$$B = \frac{(a - a_0) \cdot K \cdot 0,0014 \cdot A}{V} \cdot 1000, \quad (2.5)$$

čia: a – tuščiojo bandinio titravimui sunaudoto 0,1 N natrio šarmo tirpalo tūris, mililitrais;

a_0 – tiriamojo bandinio titravimui sunaudoto 0,1 N natrio šarmo tirpalo tūris, mililitrais;

K – 0,1 mol/l sieros rūgšties tirpalo pataisos koeficientas;

V – tiriamojo bandinio tūris, paimtas analizei, mililitrais;

A – koeficientas lygus 5,62, kuris apskaičiuotas kaip santykis tarp odoje esančio kolageno ir azoto kiekių.

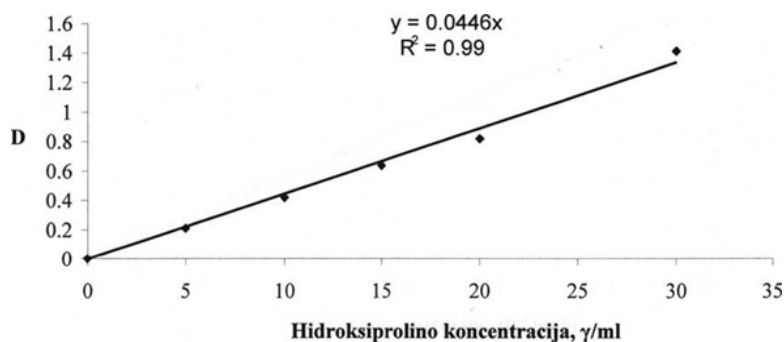
2.2.4 Hidroksiprolino ir kolageninių baltymų kiekio nustatymas

Hidroksiprolino kiekis nustatytas pagal R. Zaides modifikuotą R. Naiman ir M. Logan metodiką [63]. Kolorimetrinis nustatymo metodas pagrįstas spalvoto junginio susidarymu iš hidroksiprolino oksidavimo produkto ir p-dimetilaminobenzaldehido.

Nustatant hidroksiprolino kiekį hidrolizate buvo imama 15 ml tiriamo hidrolizato ir išgarinama virš vandens vonios. Sausas likutis suplaunamas distiliuotu vandeniu ir praskiedžiamas iki 25 ml. Gautas tirpalas filtruojamas ir naudojamas tolimesnei analizei.

Norint nustatyti kolageninių baltymų kiekį plikės milteliuose, mėzdrose ar odos nupjovose, analizei imama 0,02 g bandinio, kuris pernešamas į ampulę ir užpilama 10 ml 6 N HCl tirpalu. Užlydyta ampulė kaitinama 10 h 125 ± 2 °C temperatūroje. Gautas hidrolizatas valomas aktyvuota anglimi, filtruojamas ir išgarinamas virš vandens vonios. Sausas likutis kiekybiškai pernešamas distiliuotu vandeniu į 250 ml matavimo kolbą ir skiedžiamas distiliuotu vandeniu iki žymos.

Į du mėgintuvėlius įpilama po 1 ml nufiltruoto tiriamo tirpalo, o į kitus du - po 1 ml distiliuoto vandens. Į visus mėgintuvėlius įpilama po 0,5 ml 0,05 M vario sulfato, po 0,5 ml natrio šarmo tirpalo ir po 0,2 ml 4% vandenilio peroksido tirpalo. Mėgintuvėliai 5 min. purtomi, po to 5 min. laikomi ramiai. Vėliau 10 min. laikomi 70 ± 1 °C temperatūros vandens vonioje, retkarčiais supurtant. Išėmus iš vandens vonios mėgintuvėliai atvėsunami ir į juos įpilama po 0,5 ml 0,01 M karbamido tirpalo, jie supurtomi ir paliekami 5-10 min. ramybės būklėj. Po to įpilama po 0,8 ml 8 N sieros rūgšties tirpalo bei po 2,5 ml 5% p-dimetilaminobenzaldehido tirpalo izopropilo alkoholyje. Mėgintuvėliai 22 min. laikomi 70 °C temperatūros vandens vonioje, vėliau atvėsunami iki 20 °C ir fotokolorimetruojami. Optinis tankis matuotas fotokolorimetru GENESYS 8 (Spectronic, JAV), esant bangos ilgiui 558 nm. Kalibravimo kreivei nubraižyti naudoti 0,0005–0,003 % koncentracijos hidroksiprolino tirpalai. Hidroksiprolino kalibravimo kreivė pateikta 2.1. paveikslėlyje.



2.1 pav. Hidroksiprolino kalibravimo kreivė

Kolagene yra 12,8 % hidroksiprolino, tad kolageninių baltymų kiekis apskaičiuojamas nustatytą hidroksiprolino kiekį padauginant iš koeficiento 7,8 (t.y. 100/12,8).

2.2.5 Dichlormetane tirpių medžiagų kiekio nustatymas

Odų nuopjovų ir mėdrų bandiniai analizei buvo supjaustyti 1×1 cm dydžio gabalėliais, užšaldyti -4 °C temperatūroje ir liofilizuoti.

Liofilizuotose bandiniuose dichlormetane tirpios medžiagos buvo nustatytos pagal galiojantį standartą [64].

2.2.6 Tirpių vandenyje baltymų molekulinės masės nustatymas kapiliarinės elektroforezės metodu

Kapiliarinė elektroforezė buvo atlikta UAB „Amilina“ laboratorijoje. Analizė buvo atlikta naudojant *Agilent 2100* HPLC-SEC bioanalizinę sistemą (*Agilent*, Waldbronn, Vokietija), kolonėlės: Waters Ultrahydrogel 500, Shodex OHpak SB-802 HQ ir prieškolonėlė Shodex OHpak SB-G (guard).

Protein 80 kit lustas buvo naudojamas baltymų molekulinei masei nustatyti nuo 5 iki 80 kDa. Lustas buvo paruoštas pagal standartinį šio lusto protokolą. Detektorius buvo lazeriu išryškinanti fluorescensija (LIF). *Agilent 2100 Bioanalyzer* sistema apima baltymų analizės programinę įrangą ir programinės įrangos duomenų valdymą.

2.2.7 Plikės miltelių, odos nuopjovų ir mėdrų ištraukos pH nustatymas

Bandinių ištraukos pH vertės buvo nustatomos pagal galiojantį standartą [65]. Ištraukos pH vertė buvo matuojama pH–metru *pH-526* (*WTW*, Vokietija).

2.2.8 Sausų medžiagų kiekio nustatymas plėvelėse

Sausų medžiagų kiekis plėvelėse nustatytas bandinį džiovinant 105 °C temperatūroje iki pastovios masės. Drėgnis nustatomas pagal formulę, %:

$$w = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \cdot 100, \quad (2.6)$$

čia: m_0 – medžiagos kiekis prieš džiovinimą, g;

m_1 – medžiagos kiekis po džiovinimo, g.

Sausų medžiagų kiekis nustatomas pagal formulę:

$$SM = 100 - w, \quad (2.7)$$

čia: SM – sausos medžiagos kiekis, %.

2.2.9 Plėvelių fizikinių ir mechaninių savybių nustatymas

Plėvelių fizikinių ir mechaninių savybių tyrimai atlikti pagal ASTM D882 standartą kambario temperatūroje. Tempimui naudota tempimo mašina *BDO-FBO.5TH* (*Zwick GmbH*, Vokietija). Iš suformuotų plėvelių išpjauti 35x10 mm dydžio bandiniai. Atstumas tarp spraustukų $L = 35 \pm 5$ mm.

2.2.9.1 Plėvelę sudarančių medžiagų suirimo įvertinimas apibrėžtomis kompostavimo sąlygomis

Plėvelėse esančių medžiagų bioskaidumas apibrėžtomis kompostavimo sąlygomis nustatytos pagal galiojančią standartą [67].

2.2.9.2 Plėvelės visiško aerobinio biologinio skaidumo vandens terpėje nustatymas, matuojant deguonies suvartojimą uždarame respirometre

510 ml tūrio stikliniai buteliai, kurių viršutinėje dalyje yra sudėtas natrio hidroksidas, kuris reikalingas kaip anglies dioksido absorbcijai. Buteliai sudedami į maišyklę ir sandariai užsukami dangteliu, kuriame yra elektroninis slėgio indikatorius. Biocheminio deguonies suvartojimo (BDS) nustatymas naudojant 50 mg mėginio, 2 ml inokulianto ir 150 ml mineralinės terpės. Mineralinė terpė sudaryta iš 600ml tirpalo A (8,5 g/l KH_2PO_4 , 21,75 g/l K_2HPO_4 , 33,4 g/l $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$, 0,5g/l NH_4Cl), 250ml B tirpalo (22,5 g/l $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$), 250ml tirpalo C (36,4g/l $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$) ir 250 ml D (0,25g/l $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$). Kaip inokulianto šaltinis buvo naudotas kompostas, kurio C/N santykis buvo 20. Inokulianto BDS buvo vertinamas kaip „tuščias“ (kontrolinis) bandinys, kai dedama tik mineralinė terpė ir inokuliantas. Gautos BDS vertės atimamos iš tiriamųjų bandinių BDS verčių, norint gauti tikslias skilimo proceso vertes. Buteliai su bandiniais buvo laikomi 14 dienų tamsoje, pastovioje 25°C temperatūroje, nuolat maišant (120 rpm).

O_2 kiekis, sunaudotas biologiškai skaidant medžiagą (po korekcijos su „tuščiu“ bandiniu), išreikštas kaip teorinis deguonies suvartojimas (ThOD) procentais. ThOD išreikšiamas kaip O_2

masė apskaičiuojant O₂ kiekį, reikalingą aerobinei medžiagos mineralizacijai, t.y. oksidacija C iki CO₂. ThOD polimero monomerinės grandies C_cH_hCl_{cl}N_nS_sNa_{na}O_o molekulinė masė M, apskaičiuojama pagal formulę.

$$\text{ThOD} = \frac{16(2c + 0,5(h - cl - 3n) + 3s + 2,5p + 0,5na - o)}{M}, \quad (2.8)$$

Kolageną sudaro šie cheminiai elementai: C – 50,2 %, H – 6,4%, N – 17,8%, O ir S – 25,6 % [33]. Kolagenas yra sudarytas iš trijų α-spiralės grandinių, kur pasikartoja glicino-X-Y tripletai, kur X ir Y gali būti bet kuri aminorūgštis, bet dažniausiai yra prolinas arba hidroksiprolinas [48]. I tipo (jaučio) kolageną apie 50 % sudaro glicino, prolino ir hidroksiprolino aminorūgštys, todėl kaip teorinė kolageno monomerinė grandis buvo pasirinkta tokia (-Gly-Pro-Hyp-)_n.

Bendroji kolageno monomero formulė būtų C₁₂H₂₄N₃O₄, kurios molekulinė masė lygi 274 g/mol. Taigi, ThOD būtų apskaičiuojamas taip:

$$\text{ThOD} = \frac{16(2 \cdot 12 + 0,5(24 - 3 \cdot 3) - 4)}{274} = 1605,839 \text{ mg/g}.$$

2.2.10 Komposto kokybinių rodiklių nustatymas

2.2.10.1 Vilgumo kampo nustatymas

Bandinių vilgumo kampui nustatyti buvo naudojamas optinis tenziometras *Attension Theta Lite* (Biolin Scientific), kuris yra sudarytas iš halogeninio šviesos šaltinio, kameros, kurios skiriamoji geba yra 656 × 492 pikselių (kamera gali keisti ir fokusuoti vaizdo mastelį iki 6,5 karto), rankinės plokštelės, galinčios judėti x, y ir z ašyse, ant kurios uždedami bandiniai. Distiliuoto vandens lašai padedami automatiškai dozavimo įtaisu. Skysčio lašai uždedami ant analizuojamo bandinio paviršiaus. Kiekviename mėginyje vilgumo kampas matuojamas trijuose skirtinguose taškuose. Vilgumo kampų vertės nustatytos programine įranga “*OneAttension*”.

2.3 Rapsų maitinamosios terpės paruošimas

Augalų ląstelių kultūros kultivavimui būtina maitinamoji terpė ir išorinės aplinkos faktoriai (šviesa, temperatūra).

Murashige & Skoog (MS) terpė, kurios sudėtis pateikta lentelėje, yra viena iš plačiausiai naudojamų audinių kultūroms skirtų maitinamųjų terpių. Svarbus šios terpės bruožas yra didelės nitrato, kalio ir amonio jonų koncentracijos. Į jos sudėtį įeina miozitolis, nikotino rūgštis, piridoksino hidrochloridas (B₆) ir tiamino hidrochloridas (B₁). Maitinamoji terpė sterilizuojama autoklave 120 °C temperatūroje, esant 0,75–1 atm. slėgiui, 15min.

2.4 lentelė. Murashige & Skoog (MS) terpės sudėtis

Reagentai	Koncentracija tirpale, mg/l	Koncentracija terpėje, mg/l
<i>Makroelementai</i>		
NH ₄ NO ₃	33000	1650
KNO ₃	38000	1900
CaCl ₂ ·2H ₂ O	8800	440
MgSO ₄ ·7H ₂ O	7400	370
KH ₂ PO ₄	3400	170
<i>Mikroelementai</i>		
KJ	166	0,83
H ₃ BO ₃	1240	6,2
MnSO ₄ ·4H ₂ O	4460	22,3
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	1720	8,6
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	50	0,25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	5	0,025
CoCl ₂ ·6H ₂ O	5	0,025
<i>Geležies šaltinis</i>		
FeSO ₄ ·7H ₂ O	5560	27,8
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	7460	37,3
<i>Organiniai priedai</i>		
Mioinozitolis	20000	100
Nikotino rūgštis	100	0,5
Piridoksino hidrochloridas	100	0,5
Tiamino hidrochloridas	100	0,5
Glicinas	400	2
Sacharozė		30000
Agar-agaras		8

2.5 lentelė. MS terpės reagentų kiekis, paimtas iš pradinių tirpalų

Reagentai	Reagentų kiekiai reikalingi 1 l terpės
Makro druskos	50 ml
Mikro druskos	5 ml
Fe-EDTA	5 ml
Sacharozė	30 g
Agaras	8 g
Organiniai priedai	5 ml

2.3.1 Rapsų sėklų sterilizavimas

Vasarinių rapsų (*Brassica napus L.*) sėklos dezinfekuojamos jas išlaikant 3 minutes 70 % etanolio tirpale, po to 5 minutes – 5 % dezinfekuojančiame natrio hipochlorito tirpale ir tris kartus plaunamos distiliuotu vandeniu. Darbas atliekamas aseptinėmis sąlygomis laminare *TELSTAR BV-100* (Didžioji Britanija). Laminaras buvo dezinfekuojamas 15 minučių švitinant ultravioletiniais spinduliais bei valant 70 % etanolio tirpalu.

2.3.2 Rapsų auginimo sąlygos

10 dezinfekuotų vasarinių rapsų sėklų patalpinamos į Petri lėkšteles, kurios užpildytos 25 ml mitybinės terpės. Sėklos daiginamos 7 paras.

2.3.3 Baltymų kiekio nustatymas augalinėje žaliavoje

Baltymų kiekio nustatymas remiasi Bradfordo metodu. Metodus pagrįstas specifine baltymų sąveika su *Kumasi* briliantiniu mėliu ir susidariusio komplekso koncentracijos matavimu spektrofotometriškai esant 595 nm bangos ilgiui. Augalinė medžiaga išdžiovinama, pasverama 0,05 g ir panaudojant buferius išekstrahuojami baltymai. Augalinė medžiaga užpilama buferiais Nr. 1-3, kurių sudėtis nurodyta žemiau, po 1 ml ir maišoma vieną valandą, vėliau nucentrifuguojama 9000 aps/min 20 min 4 °C. Po centrifugavimo paimame 100 µl ekstrakto, pridedame Bradfordo reagento (2 ml). Po 2 minučių matuojama šviesos sugertis, esant 595 nm bangos ilgiui.

Baltymų išskyrimui naudojami buferiai: Nr. 1 – 0,2 M natrio acetatas, (pH= 6,0); Nr. 2 – 0,2 M Tris – HCl, (pH=8,0); Nr. 3 – 0,1 M natrio boratas, (pH=10).

Bendras baltymų kiekis X (mg/100 mg) apskaičiuojamas iš formulės:

$$X = \frac{a \cdot V \cdot 100}{n \cdot V_1}, \quad (2.9)$$

a – baltymo koncentracija iš kalibravimo kreivės, mg;

V – pradinis ekstrakto tūris, ml;

V₁ – pradinis ekstrakto tūris, ml, paimtas praskiedimui;

n – augalinė masė, mg.

2.4 Rezultatų patikimumo apskaičiavimas

Atlikus eksperimentus ir gavus tam tikras rezultatų skaitines vertes, jos matematiškai statistiškai apdorotos [68].

Bandymų rezultatų aritmetinis vidurkis \bar{X} apskaičiuotas pagal formulę:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n},$$

(2.10)

čia: X_i - vieno bandymo rezultatas;

n - bandymų skaičius, vnt.

Naudojantis šiais statistiniais rodikliais nustatomi:

- eksperimentui reikalingas bandinių skaičius, vnt;
- dviejų vidutinių (aritmetinių vidurkių) rezultatų verčių palyginimas.

3. EKSPERIMENTŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1 Baltyminių odų pramonės atliekų sudėtis

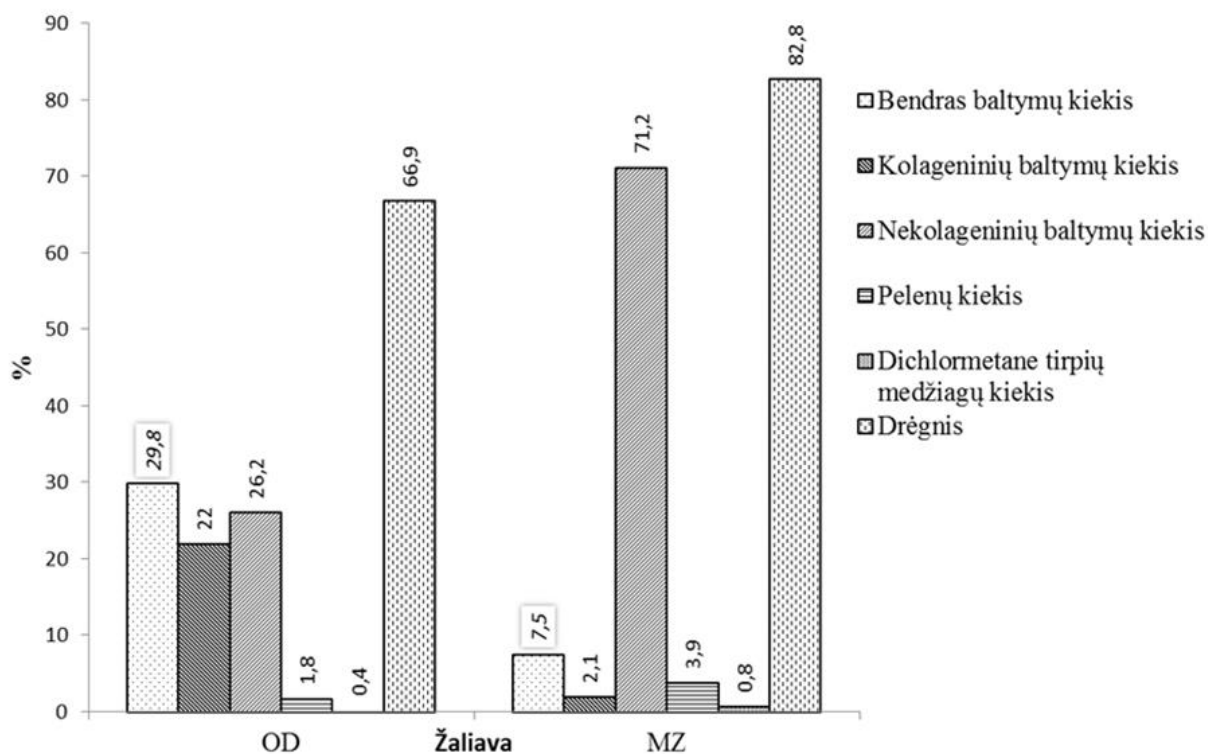
Vienas šio darbo tikslų yra gauti tinkamą plėvelę rapsų sėklų apdorojimui. Plėvelės savybės labai priklauso nuo pradinių medžiagų sudėties, todėl pirmiausiai buvo nustatyta pasirinktų baltyminių odų pramonės atliekų mėzdrių (MZ) ir odos nuopjovų (OD) sudėtis, kuri toliau darbe vadinama žaliava. Nustatyti šie rodikliai: ištraukos pH, bendras baltymų kiekis, pelenų kiekis ir drėgnis. Kontroliniu bandiniu buvo pasirinkti plikės milteliai.

3.1 lentelė. Tyrimams naudotų baltyminių odų pramonės atliekų kokybiniai rodikliai

Kokybiniai rodikliai	Žaliava	
	MZ	OD
Ištraukos pH vertė	11,8	6,8
Bendras baltymų kiekis, g/kg	436,90	901,97
Kolageninių baltymų kiekis, g/kg	125,84	665,32
Nekolageninių baltymų kiekis, g/kg	311,06	236,65
Pelenų kiekis, %	22,8	5,54
Drėgnis, %	82,8	66,9
Dichlormetane tirpių medžiagų kiekis, %	4,85	1,14

Kaip matyti iš 3.1 lentelėje pateiktų rezultatų bendras baltymų kiekis bandiniuose priklausomai nuo žaliavos kinta nuo 436,9 g/kg (MZ) iki 901,97 g/kg, kolageninių baltymų nuo 125,84 g/kg (MZ) iki 665,32 g/kg (OD). Didžiausias pelenų (22,8 %) ir dichlormetane tirpių medžiagų kiekis (4,85 %) nustatytas MZ. Drėgnio vertė kinta nuo 82,8 % (MZ) iki 66,9 % (OD).

Taip pat labai skiriasi žaliavos ištraukos pH vertės, kuri skiriasi dėl odos apdoravimo procesų. OD buvo gautos po atmirkymo proceso, o MZ – po kalkinimo. Didesnis pelenų kiekis MZ taip pat gautas dėl didesnio kalcio junginių kiekio, nes odą kalkinam naudojamas kalcio hidroksidas, kurio dedama apie 5 % nuo atmirkytos žaliavos masės.



3.1 pav. Tyrimams naudotų baltyminių odų pramonės atliekų procentinė sudėtis

3.1 pav. pateikia 3.1 lentelės duomenys išreikšti procentais, skaičiuojant nuo absoliučiai sausos bandinių masės.

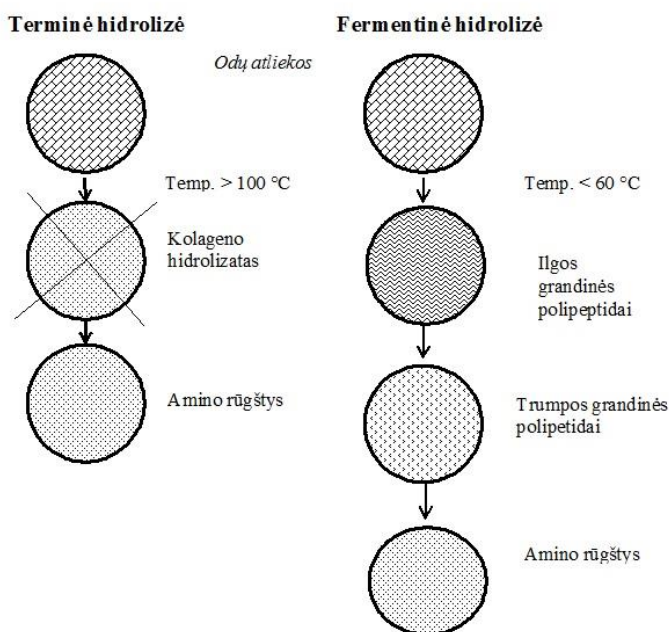
Kaip matyti iš pateiktų rezultatų OD ir MZ bendras ir kolageninių baltymų kiekis skiriasi atitinkamai OD šis santykis skiriasi 28,2 %, o MZ net 72,0 %. Nekolageninių baltymų kiekis gautas didesnis MZ (71,20 %).

3.2 Terminės ir fermentinės baltyminių odų pramonės atliekų hidrolizės tyrimas

Ypatingai svarbiu šiuolaikinėje žemdirbystėje tampa siekis sumažinti neorganinės anglies kiekį dirvoje, ką atsispindi Europos Sąjungos politika tampa (ES direktyva 91/676), norint sumažinti cheminių medžiagų naudojimą žemės ūkyje. Todėl baltymų hidrolizatų naudojimas tampa itin patrauklia alternatyva. Tačiau, pagal Europos Komisijos Reglamentą (Tarybos sprendimas 2000/766), visi gyvūninės kilmės produktai, privalo būti apdoroti nurodytomis sąlygomis (Komisijos sprendimas 2001/9): pH > 11, temperatūra > 140 °C, slėgis > 0,36 MPa. Tokios sąlygos leidžia sumažinti riziką plisti spongiforminei encefalopatijai (GSE). Gautų peptidų molekulinė masė yra <10 kDa. Tačiau vis dar intensyviai diskutuojama ar tokiu būdu gautas trąšas, galima naudoti ekologinėje žemdirbystėje. Šiame darbe gautą hidrolizatą ketinama panaudoti rapsų sėklų dangai suformuoti, bet ne tiesiogiai kaip trąšą.

Kolageno hidrolizatai iš gyvūnų odos atliekų ir kailių yra gaunami kontroliuojamos terminės ar fermentinės hidrolizės būdu, kaip parodyta 3.2 pav. [69].

Kaip matyti iš pateiktos schemos (3.2 pav.) Selvakumar P. ir kt. atlikti tyrimai, parodė kad vykdant terminę odų hidrolizę aukštesnėje nei 100 °C negaunamas kolageno hidrolizatas, o iš karto vyksta kolageno skilimas iki amino rūgščių [43]. Tuo tarpu, vykdant fermentinę hidrolizę žemesnėje nei 60 °C temperatūroje, hidrolizate yra tiek ilgų, tiek trumpų grandžių polipeptidų.



3.2 pav. Terminės ir fermentinės odos hidrolizės produktai [69]

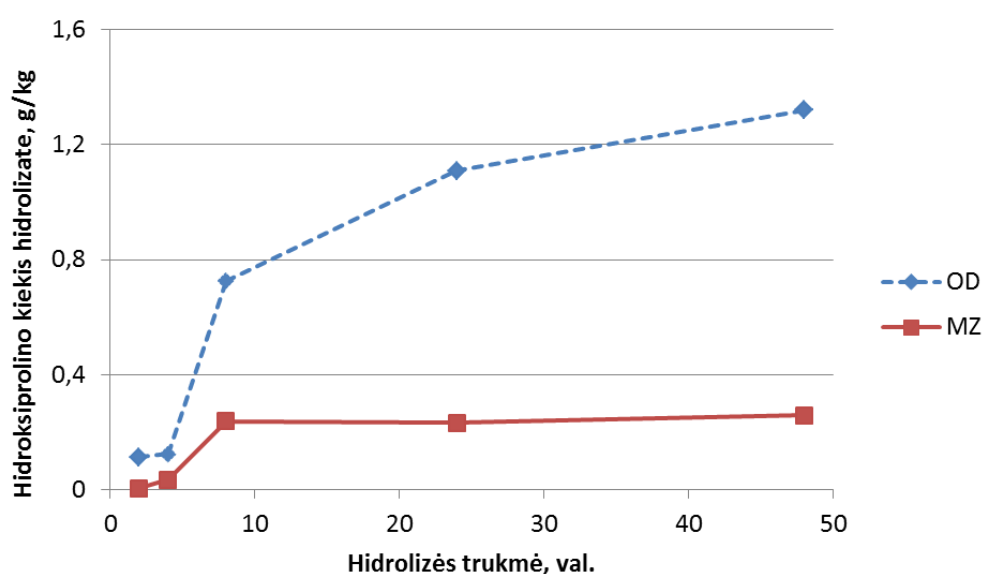
Darbo tikslas yra gauti ne tik kokybišką plėvelę rapsų sėkloms padengti, bet pirminę trąšą kaip augimo stimulatorių augalui jo dygimo metu. Kaip žinoma, augalas gali pasisavinti tik mažos molekulinės masės junginių tirpinius iš dirvožemio, todėl labai svarbu atlikti baltyminių odų atliekų hidrolizę iki reikiamo hidrolizės laipsnio t.y. kad gautame hidrolizate būtų tiek didelės, kas leistų gauti kokybišką plėvelę, tiek ir mažos molekulinės masės junginių, kuriuos augalas galėtų pasisavinti. Šarminės ir rūgštinės hidrolizių buvo atsisakyta, dėl chloridų formavimosi hidrolizės produktuose, kurie yra ypač nepageidaujami juos vėliau naudojant kaip trąšą žemės ūkyje [70].

3.2.1 Terminė baltyminių odų pramonės atliekų hidrolizė

Norint gauti ilgesnės grandinės polipeptidų, tam kad pavyktų suformuoti kokybišką plėvelę, vykdant terminę hidrolizę buvo pasirinkta žemesnė 90 °C temperatūra. Taip pat, L. Corte ir kt. rezultatai parodė, kad apdorojant odos drožles 90 °C temperatūros tiesioginiu garu,

180 minučių, gauto hidrolizato skystoje fazėje yra daugiausiai azoto 29,8 %, lyginant su kitais hidrolizės būdais. OD ir MZ terminė hidrolizė buvo atlikta pagal 2.3 lentelėje pateiktą metodiką.

Kaip buvo minėta, aminorūgštys gerai veikia augalų vegetacines savybes, o būtent hidroksiprolinas yra žinomas kaip osmoprotektorius [38], todėl yra svarbu nustatyti jo kiekį OD ir MZ hidrolizatuose. Taip pat buvo nustatyta, kad augalas gali tiesiogiai per šaknis įsisavinti, be dirvos mikroorganizmų veiklos, tik amino rūgštis. Hidroksiprolino kiekis hidrolizate buvo pasirinktas kaip „indikatorius“, parodantis kolageno hidrolizę iki amino rūgščių. Hidroksiprolino kiekis OD ir MZ hidrolizatuose buvo nustatytas po 2, 4, 8, 24 ir 48 valandų hidrolizės. Gauti rezultatai yra pateikti 3.3 paveikslėlyje.

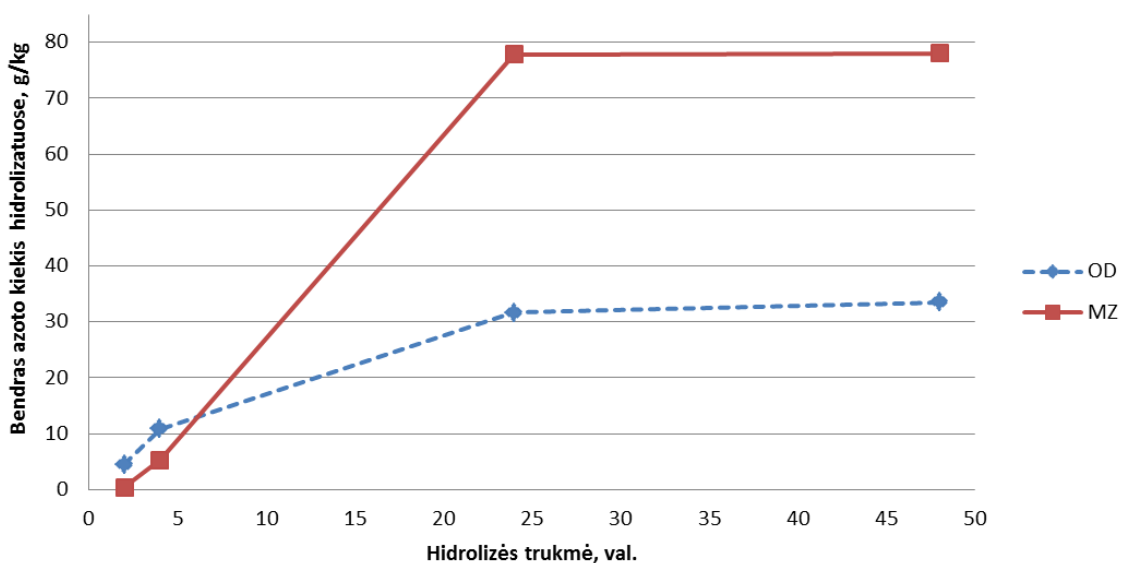


3.3 pav. Hidroksiprolino kiekio OD ir MZ hidrolizatuose priklausomybė nuo terminės hidrolizės trukmės.

Kaip matyti iš (3.3 pav.) pateiktų rezultatų, ilgėjant hidrolizės trukmei, didėja „laisvo“ hidroksiprolino kiekis hidrolizate, kas parodo, kad kolageno hidrolizė vyksta intensyviau. Taip pat gauta, kad OD hidrolizate visais atvejais nustatomas didesnis kiekis „laisvo“ hidroksiprolino nei MZ. Taip yra todėl, kad pačiose odos nuopjovose kolageninių baltymų kiekis yra didesnis nei mėzdrose (3.1 lent.). Žinoma, jog visiškai suirus MZ gaunama 16 g/kg, o OD – 85,29 g/kg hidroksiprolino hidrolizate. Didžiausias kiekis 1,32 g/kg hidroksiprolino gautas OD hidrolizate po 48 val., t.y. beveik 5 kartus daugiau nei mėzdrose. Tačiau, kolageninių baltymų suyra tik 1,5 % OD ir 1,6 % MZ po 48 val. terminės hidrolizės. Galima teigti, kad kolageno hidrolizė tiek OD tiek MZ vyksta panašiai.

Kaip buvo minėta literatūroje, rapsai itin reiklūs azotui [37]. Vienai tonai rapsų sėklų užauginti vasariniai rapsai sunaudoja vidutiniškai 55 kg azoto. Baltyminės odų pramonės

atliekos yra lengvai suyrančios ir gali būti panaudojamos organinėms, azotu praturtintoms trąšoms gaminti. Jų sudėtyje yra ~ 15 % azoto, kurį lėtai gali pasisavintų augalai kartu su kitais baltymais [43], todėl yra svarbu nustatyti bendrą azoto kiekį baltyminėse odų atliekose. Gauti rezultatai pateikti 3.4 paveiksle. Vaizduojamas bendro azoto kiekio MZ ir OD hidrolizatuose kitimas terminės hidrolizės metu, kai hidrolizės trukmė kinta nuo 2 iki 48 val. Buvo nustatyta (3.1 lent.), kad visiškai suirus MZ terminės hidrolizės metu gaunama 78 g/kg, OD – 161 g/kg bendro azoto. Ilgėjant hidrolizės trukmei, bendras azoto kiekis didėja tiek OD, tiek MZ hidrolizate. Didžiausias jo kiekis gautas po 48 val. hidrolizės, OD hidrolizate 78,23 g/kg ir MZ – 34,06 g/kg. Taigi, po 48 val. bendrų baltymų suyra 48,5 % OD ir 43,6 % MZ.



3.4 pav. Bendrojo azoto kiekio OD ir MZ hidrolizatuose priklausomybė nuo terminės hidrolizės trukmės

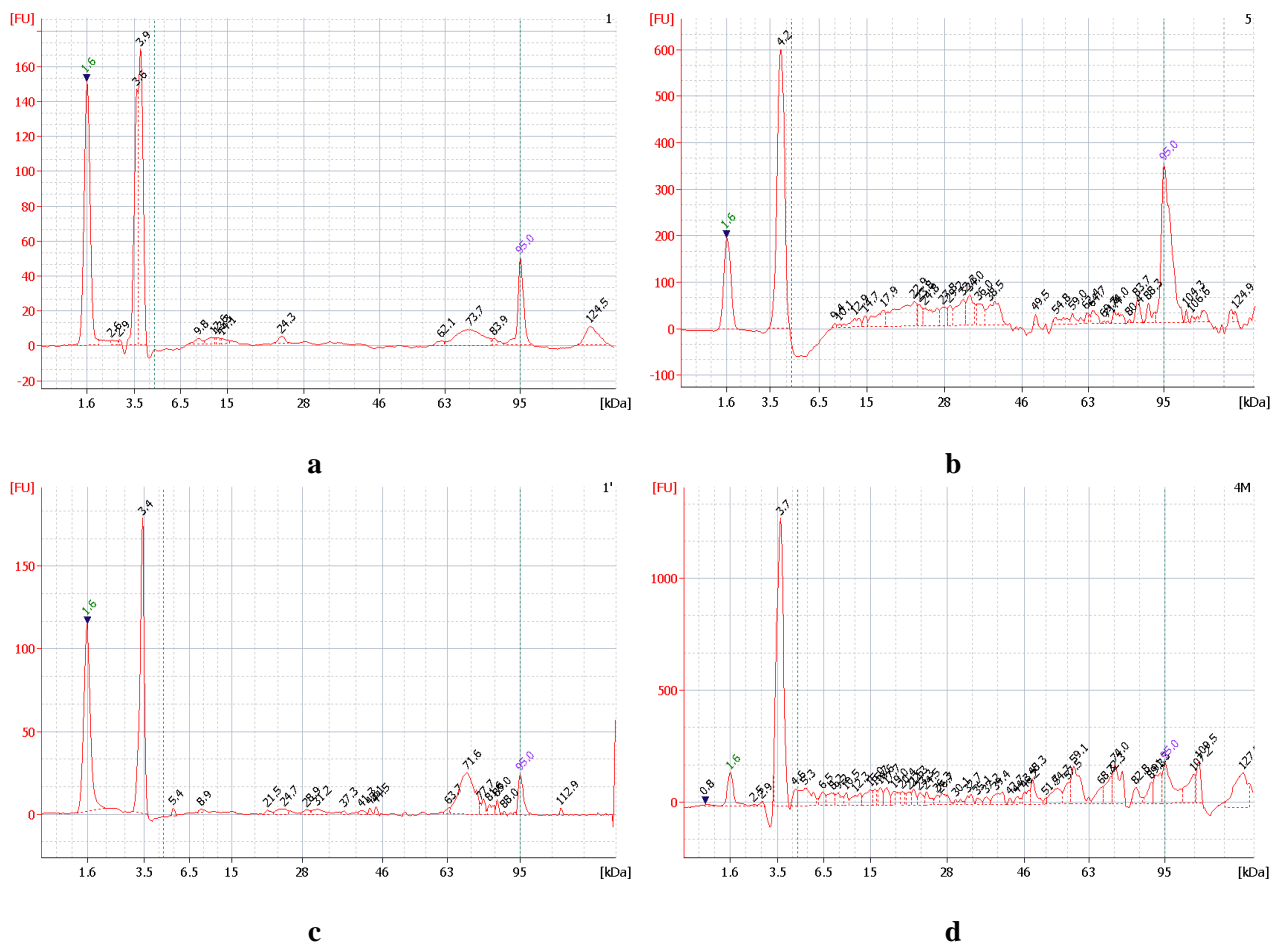
Taigi, galima padaryti išvadą, kad hidroksiprolino ir bendro azoto kiekis OD ir MZ hidrolizatuose priklauso nuo žaliavos sudėties.

Ankstesni tyrėjų rezultatai parodė, kad peptidų gautų hidrolizinant MZ molekulinė masė buvo mažesnė nei 10 kDa, o tie, kurie buvo gauti iš drožimo atliekų – 10 ir 25 kDa [70]. Taip pat pastebėta, kad kuo daugiau kolageno pradinėje žaliavoje, gaunamas produktų mišinys, kuriame yra nepilnai suhidrolizinto baltymo, kurio molekulinė masė yra apie 50-75 kDa.

Atlikus kapiliarinę elektroforezę OD ir MZ hidrolizatų analizę po 2 ir 48 h terminės hidrolizės buvo nustatyti vandenyje tirpių baltymų molekulinė masė. Gauti rezultatai pateikti 3.5 paveiksle.

Gauti rezultatai 3.5 pav. patvirtina anksčiau gautus rezultatus, kad ilgėjant terminės hidrolizės trukmei, kolageno fragmentacija į mažesnės molekulinės masės peptidus yra didesnė. Tačiau, teigti kaip kiti autoriai, kad vyrauja kokios nors vienos molekulinės masės baltymai

negalima. Galima būtų tik pastebėti, kad MZ hidrolizate skirtingos molekulinės masės peptidų daugiau, o tai gali būti dėl didesnio kiekio nekolageninių baltymų juse (3.1 lent.).



3.5 pav. OD ir MZ hidrolizate esančių vandenyje tirpių baltymų molekulinės masės priklausomybė nuo terminės hidrolizės trukmės: **a** – OD po 2 h; **b** – OD po 48 h; **c** – MZ po 2 h; **d** – MZ po 48 h.

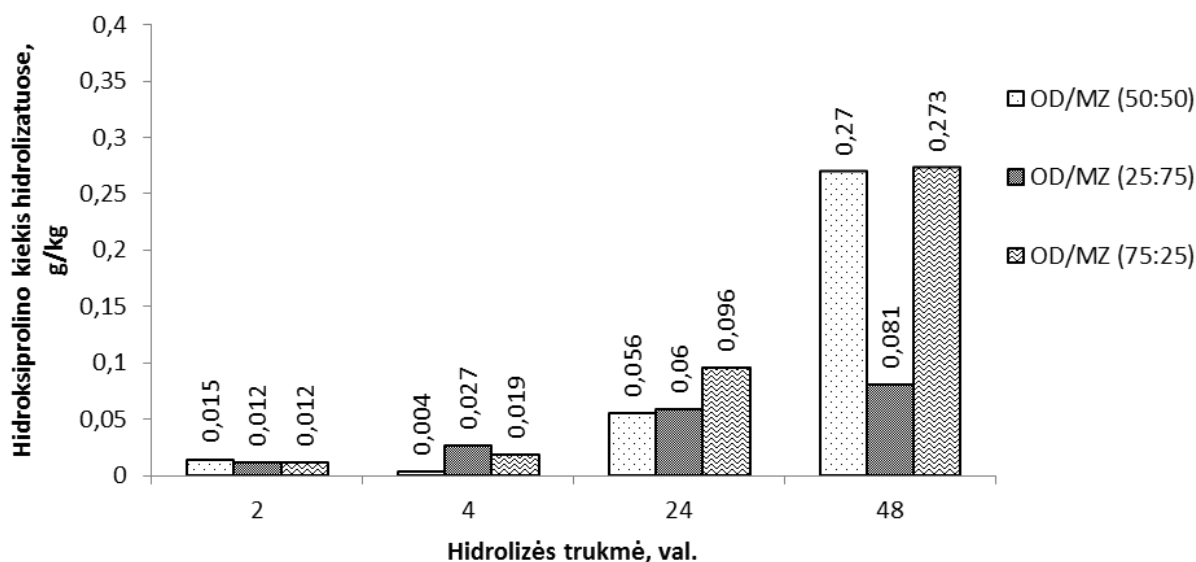
Vienas iš šio darbo tikslų buvo gauti kokybišką plėvelę rapsų sėkloms padengti, buvo tiriama kaip terminės hidrolizės trukmė įtakoja plevėdarines gautų hidrolizatų savybes. Tam į Petri lėkštelę buvo pilamas hidrolizatas ir formuojamos plėvelės. Gauti rezultatai pateikti 3.2 lentelėje.

3.2 lentelė. MZ ir OD hidrolizatų plevėdarinių savybių priklausomybė nuo terminės hidrolizės trukmės

Hidrolizės būdas	Terminė			
	2	4	24	48
Hidrolizės trukmė, val.				
<i>Žaliava, g</i>				
OD	-	+	+	+
MZ	-	-	-	-

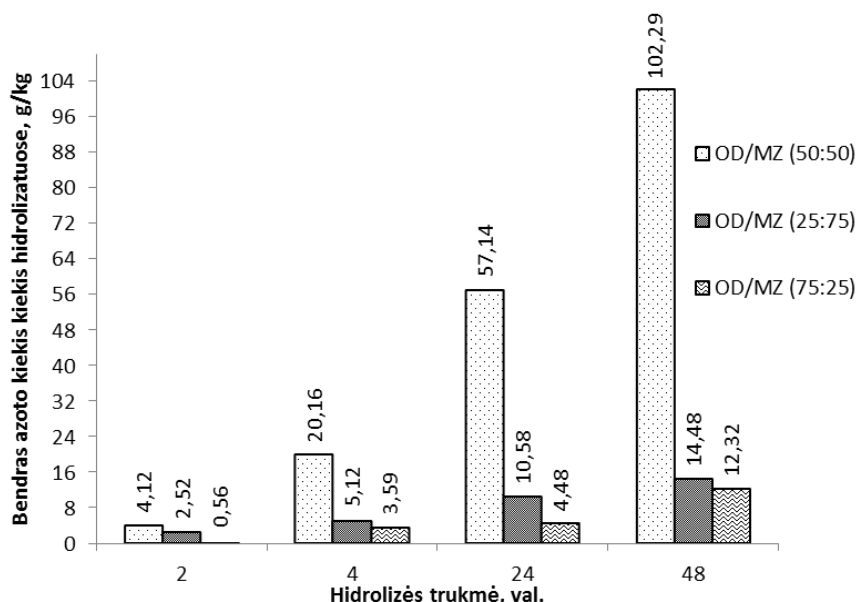
Pastaba: + plėvelė susidarė, - plėvelė nesusidarė.

Kaip matyti iš pateiktų rezultatų, plėvelę pavyko suformuoti tik iš OD hidrolizatų po 4, 24 ir 48 h hidrolizės. Todėl, galima teigti, kad tik MZ suformuoti kokybiškai plėvelei nepakanka. Taigi, tolimesniuose tyrimuose buvo sudaryti OD ir MZ mišiniai (m/m): MZ/OD – 50:50; MZ/OD – 75:25; MZ/OD – 25:75. Buvo nustatytas hidroksiprolino ir bendro azoto kiekiai gautuose hidrolizatuose. Gauti rezultatai pateikti 3.6 ir 3.7 paveiksluose.



3.6 pav. Hidroksiprolino kiekio odų atliekų mišinių hidrolizatuose priklausomybė nuo terminės hidrolizės trukmės.

Kaip ir buvo tikėtasi, hidroksiprolino kiekis ilgėjant hidrolizės trukmei didėja (3.6 pav). Didžiausias kiekis 0,273 g/kg hidroksiprolino gautas po 48 val. OD/MZ (75:25) hidrolizės t.y ~ 23 kartus daugiau nei po 2 val. Panaši vertė 0,27 g/kg gauta ir po 48 val. OD/MZ (50:50) hidrolizės. Iš gautų rezultatų galima teigti, kad kuo daugiau mišinyje yra OD tuo didesnis gaunamas „laisvo“ hidroksiprolino kiekis hidrolizate.



3.7 pav. Bendrojo azoto kiekio odų atliekų mišinių hidrolizatuose priklausomybė nuo terminės hidrolizės trukmės.

3.7 paveiksle pateikiamas bendro azoto kiekio kitimas MZ ir OD mišiniuose terminės hidrolizės metu. Ilgėjant hidrolizės trukmei, bendras azoto kiekis didėja visuose mišiniuose. Didžiausias kiekis azoto nuo 4,12 g/kg iki 102,29 g/kg gautas vykdant OD/MZ (50:50) hidrolizę. Po 48 val. hidrolizės mažiausias kiekis azoto 12,32 g/kg nustatytas OD/MZ (75:25) t.y. ~ 8 kartus mažiau nei OD/MZ (50:50) hidrolizate. Iš gautų rezultatų galima manyti, kad MZ yra lengviau suskaidomos iki azoto nei OD, todėl tuose mišiniuose, kur vyrauja daugiau MZ, gautas didesnis bendras azoto kiekis. Taip yra tai gali būti aiškinama tuo, kad MZ procentaliai yra daugiau bendrų baltymų (3.1 pav.).

Taip pat buvo nustatinėjama iš kokių mišinių galima suformuoti plėvelę. Rezultatai pateikiami 3.3 lentelėje.

3.3 lentelė. MZ ir OD mišinių hidrolizatų plevėdarinių savybių priklausomybė nuo terminės hidrolizės trukmės.

Hidrolizės būdas Hidrolizės trukmė, val.	Terminė			
	2	4	24	48
<i>Žaliava, g</i>				
OD/MZ (50:50)	+	+	+	+
OD/ MZ (25:75)	-	+	+	+
OD/ MZ (75:25)	+	+	+	+

Pastaba: + plėvelė susidarė, - plėvelė nesudarė.

Iš 3.3 lentelės gautų rezultatų suformuota plėvelė iš visų mišinių hidrolizatų, išskyrus iš OD/MZ (25:75) po 2 val. terminės hidrolizės.

Apibendrinus rezultatus galima teigti, kad po terminės hidrolizės kai temperatūra 90 °C iš OD/MZ (25:75), OD/MZ (50:50) ir OD/MZ (75:25) mišinių galima suformuoti plėvelę, jau po 4 val. apdorojimo. Taip pat galima daryti išvadą, kad didėjant OD kiekiui mišinyje plėvelė galima suformuoti jau po 2 val. hidrolizės. Tačiau, hidroksiprolino ir bendrojo azoto kiekis hidrolizatuose ir mažos molekulinės masės peptidų ir polipeptidų yra mažas. Todėl efektyviausia būtų apdorojimas 4 val., esant 90 °C temperatūroje, nes ilgesnė hidrolizės trukmė būtų netikslinga.

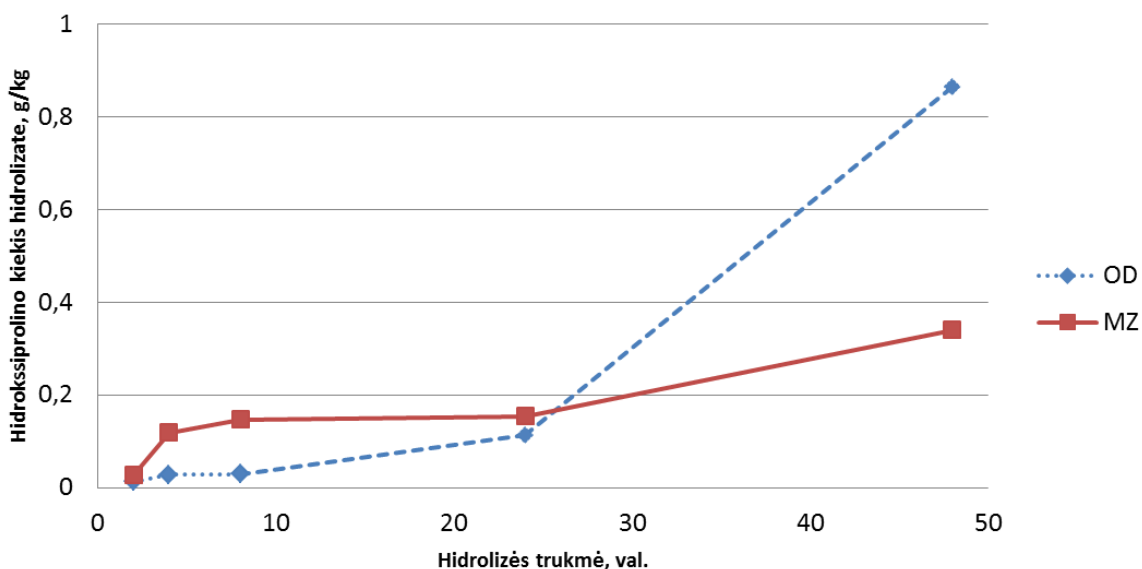
3.2.2 Fermentinė baltyminių odų pramonės atliekų hidrolizė

Nors vienas iš fermentinės hidrolizės trūkumų įvardijamas jos finansinis aspektas, t.y. pačių fermentų naudojamų hidrolizei kaina [70]. Tačiau dauguma autorių pabrėžia didelį šio metodo efektyvumą [51, 58, 69]. Tačiau fermentinės hidrolizės metu gauti produktai yra panašios molekulinės masės polipeptidai, kas mūsų tyrime nėra pageidaujamas efektas.

OD ir MZ fermentinei hidrolizei šiame darbe pasirinkta šarminė proteazė FP „*Oropon ON2*“, kuri naudojama plikei minkštinti. Šio fermentinio preparato proteolitinis aktyvumas yra 800 vnt/g. Šis fermentinis preparatas įprastai naudojamas gneisto pašalinimui nuo plikės paviršiaus, kurio optimalios veikimo sąlygos yra, kai temperatūra – 37 °C, o terpės pH 7,0-8,5. OD ir MZ ištraukų pH vertės yra atitinkamai 8,1 ir 7,6.

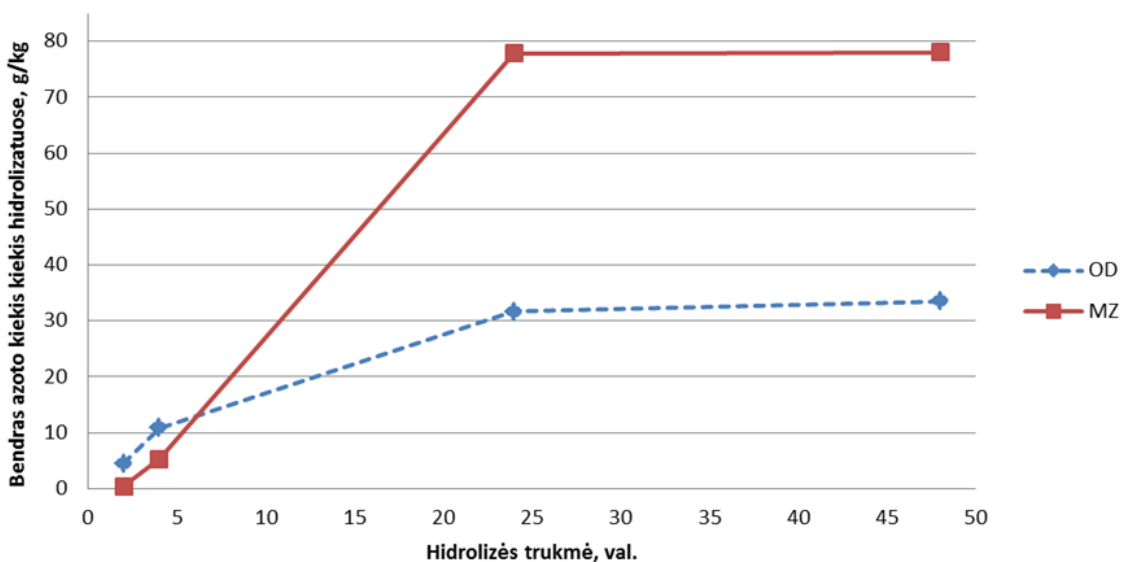
Kaip jau buvo minėta literatūros apžvalgoje, fermentinė hidrolizė dažniausiai vykdoma esant temperatūrai 50-65 °C, optimalus pH tarp 5 ir 8, fermento kiekis 0,3-5 % nuo ž. m., kai proteolitinis fermento aktyvumas yra 400-800 akt. vnt/g, vandens ir substrato santykis 6:1 [69, 73, 74]. Taigi, fermentinei hidrolizei vykdyti pasirinkta 55 °C temperatūra, vandens ir substrato santykis (2:1), o FP *Oropon ON2* – 2 % nuo ž.m.

Tyrimu metu OD ir MZ hidrolizatuose nustatytas hidroksiprolino ir bendrų baltymų kiekis. Gauti rezultatai pateikti kreivių pavidale 3.8 ir 3.9 paveiksluose.



3.8 pav. Hidroksiprolino kiekio OD ir MZ hidrolizatuose priklausomybė nuo fermentinės hidrolizės trukmės.

Kaip matyti iš gautų rezultatų, (3.8 pav.) hidroksiprolino kiekis hidrolizatuose didėja, ilgėjant fermentinės hidrolizės trukmei kaip ir terminės hidrolizės metu. Po 4, 8, 24 val. MZ hidrolizės gaunamas didesnis kiekis hidroksiprolino nei OD hidrolizate, tačiau po 48 val. hidroksiprolino kiekis OD hidrolizate žymiai padidėja ~ 2,5 kartus lyginant su 48 val. fermentinės hidrolizės MZ hidrolizatu. OD hidrolizate po 48 val. fermentinės hidrolizės gauta ~ 1,5 katus mažiau hidroksiprolino nei tokiame pačiame terminės hidrolizės būdu gautame hidrolizate.



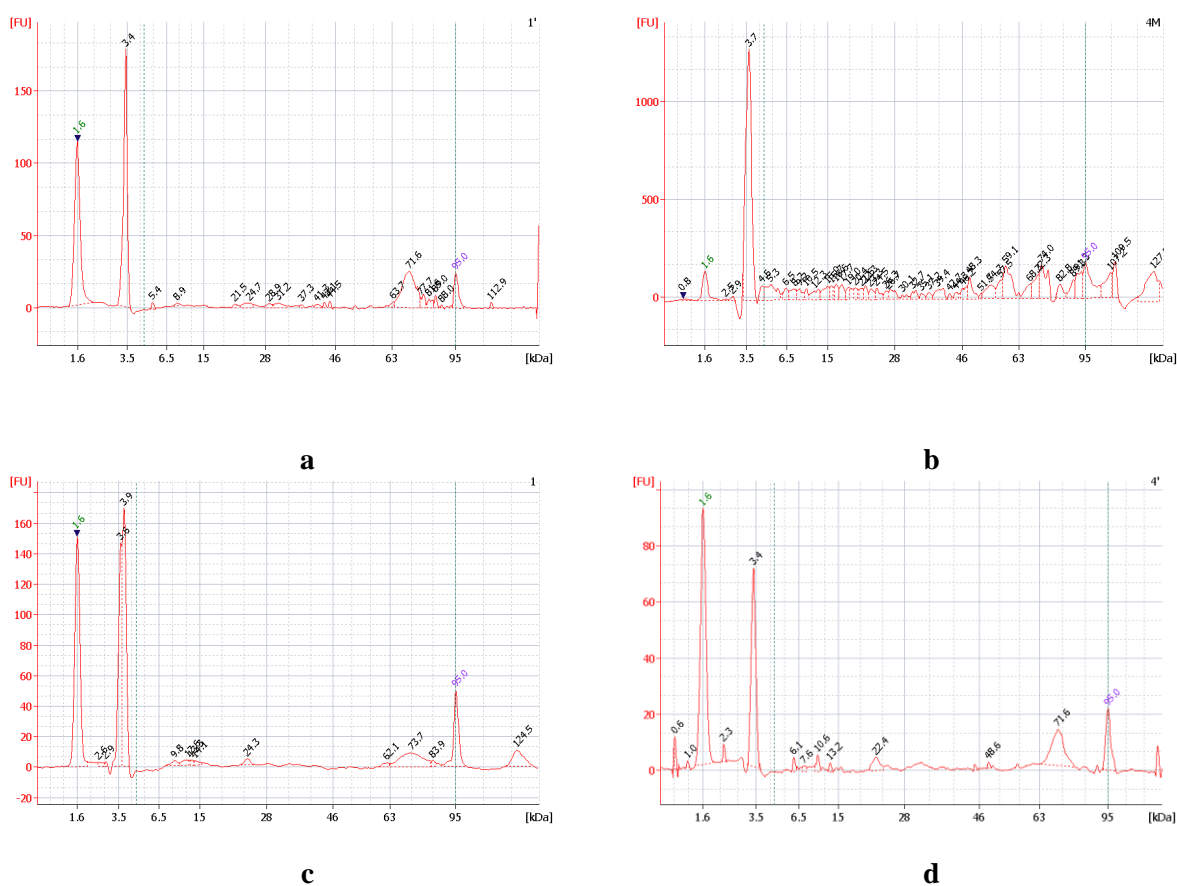
3.9 pav. Bendrojo azoto kiekio OD ir MZ hidrolizatuose priklausomybė nuo fermentinės hidrolizės trukmės

Lyginant su terminės hidrolizės rezultatais, fermentinės hidrolizės būdu gautame MZ hidrolizate po 48 val. bendras azoto kiekis nustatytas panašus 78,03 g/kg. Tačiau OD hidrolizate

gauta apie ~ 5 kartus mažiau azoto nei tokiaame pačiame terminės hidrolizės būdu gautame hidrolizate.

Fermentinės hidrolizės būdu gautuose hidrolizatuose taip pat nustatyti vandenyje tirpių baltymų molekulinės masės kapiliarinės elektroforezės metodu. Gauti rezultatai pateikti 3.10 paveiksle.

Iš 3.10 pav. pateiktų rezultatų matyti, kad ilgėjant fermentinės hidrolizės trukmei, baltymų fragmentacija į mažesnės molekulinės masės peptidus ir polipeptidus yra didesnė. MZ hidrolizate skirtingos molekulinės masės baltymų buvo nustatyta daugiau, kas leistų daryti prielaidą, kad MZ esantys baltymai yra stipriau paveikiami fermento. Taip pat, kaip buvo minėta anksčiau MZ sudėtyje yra daugiau nekolageninių baltymų (3.1 lent.), kurių hidrolizė tokiomis sąlygomis gali vykti greičiau.



3.10 pav. OD ir MZ hidrolizate esančių vandenyje tirpių baltymų molekulinės masės priklausomybė nuo fermentinės hidrolizės trukmės: **a** – MZ 2 h; **b** – MZ 48 h; **c** – OD 2 h; **d** – OD 48 h.

Taip pat kaip ir terminės hidrolizės atveju buvo tiriama OD ir MZ hidrolizatų plevečiarinės savybės. Iš gautų hidrolizatų buvo formuojamos plėvelės ir gauti rezultatai pateikti 3.4 lentelėje.

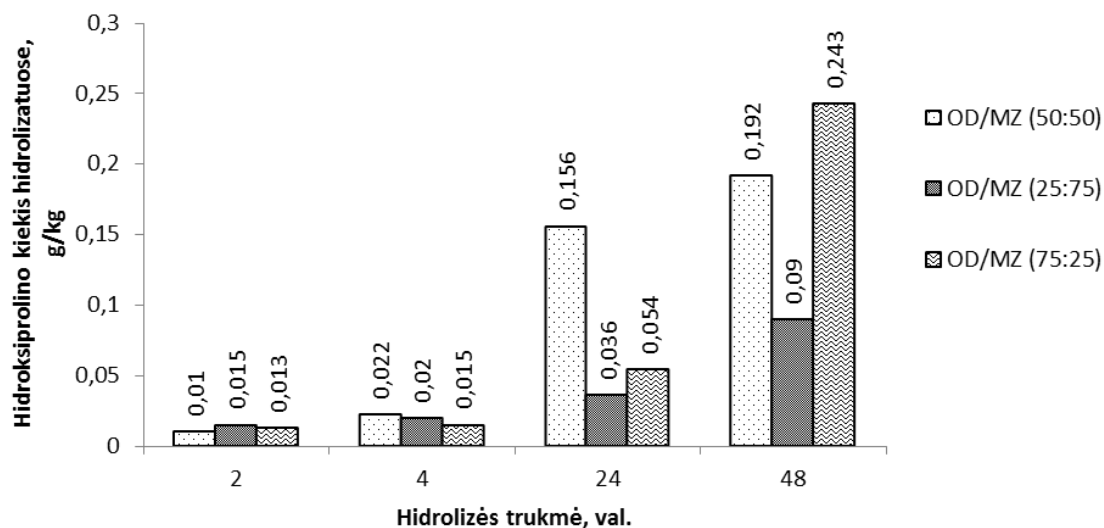
3.4 lentelė. MZ ir OD hidrolizatų plėvėdarinių savybių priklausomybė nuo fermentinės hidrolizės trukmės.

Hidrolizės būdas	Fermentinė				
	Hidrolizės trukmė, val.	2	4	24	48
<i>Žaliava, g</i>					
OD		-	+	-	-
MZ		-	-	-	-

Pastaba: + plėvelė susidarė, - plėvelė nesusidarė.

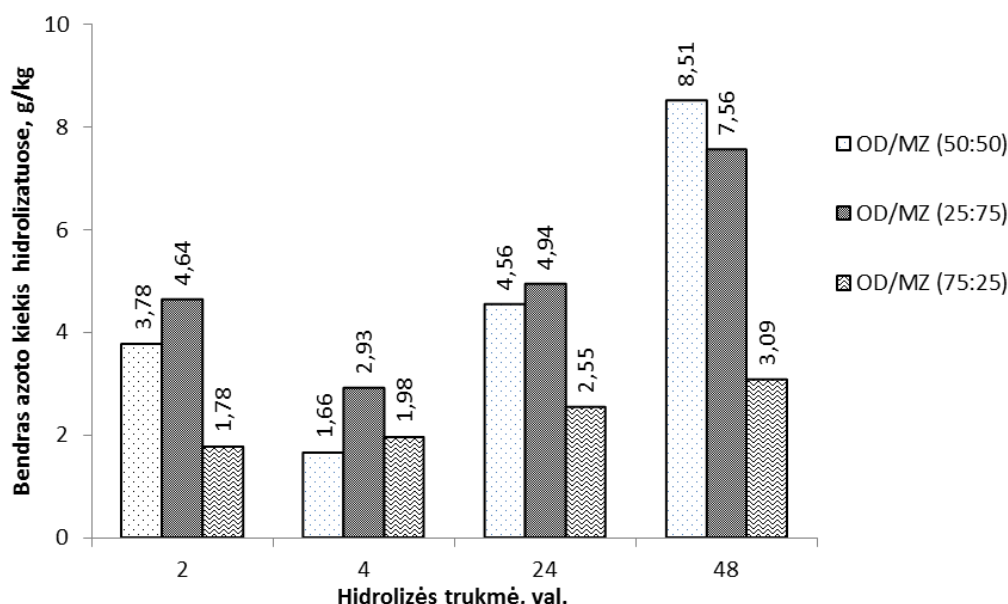
Kaip matyti iš 3.4 lentelės plėvelę suformuoti pavyko tik iš OD hidrolizato gauto po 4 val. hidrolizės, todėl kaip ir terminės hidrolizės atveju buvo bandoma suformuoti plėvelę iš baltyminių odų atliekų mišinių. Atliekų santykis buvo toks pat kaip ir vykdant terminę hidrolizę (psl. 44).

Buvo nustatytas bendro azoto kiekis OD ir MZ hidrolizatuose. Rezultatai pateikti 3.11 ir 3.12 paveiksluose.



3.11 pav. Hidroksiprolino kiekio odų atliekų mišinių hidrolizatuose priklausomybė nuo fermentinės hidrolizės trukmės.

Kaip ir terminės hidrolizės atveju daugiausiai hidroksiprolino gauta, kai OD kiekis mišinyje yra didesnis. Didžiausias jo kiekis 0,243 g/kg gautas po 48 val. OD/MZ (75:25) hidrolizės, mažiausias – 0,01 g/kg OD/MZ (50:50) hidrolizate.



3.12 pav. Bendro azoto kiekio odų atliekų hidrolizatuose priklausomybė nuo fermentinės hidrolizės trukmės.

Kaip matyti fermentinės hidrolizės atveju daugiausiai bendro azoto 8,51 g/kg gaunama po 48 val. OD/MZ (50:50) hidrolizate, t.y. \approx 12 kartų mažiau nei terminės hidrolizės būdu. Tik po 2 val. fermentinės OD/MZ (25:75) hidrolizės, hidrolizate gauta 4,64 g/kg hidroksiprolino t.y. \sim 2 kartus daugiau nei tokiam pačiame terminės hidrolizės būdu gautame hidrolizate (3.7 pav.).

Iš gautų hidrolizatų buvo formuojama plėvelė, gauti rezultatai pateikti 3.5 lentelėje.

3.5 lentelė. MZ ir OD mišinių hidrolizatų plevėdarinių savybių priklausomybė nuo fermentinės hidrolizės trukmės

Hidrolizės būdas Hidrolizės trukmė, val.	Fermentinė			
	2	4	24	48
Žaliava, g				
OD/MZ (50:50)	-	-	-	-
OD/ MZ (25:75)	-	-	-	-
OD/ MZ (75:25)	-	-	-	-

Pastaba: + plėvelė susidarė, - plėvelė nesusidarė.

Kaip matyti iš 3.5 lentelės plėvelės nepavyko suformuoti nei vienu atveju.

Apibendrinant būtų galima teigti, kad MZ, OD ir jų mišinių fermentinei hidrolizei naudojant 2 % ž.m. FP *Oropon ON2* yra neefektyvu, nes suformuoti plėvelės nepavyksta.

3.3 Kolageninių hidrolizatų įtaka rapsų daigumui ir kokybei

Plėvelę suformuoti pavyko tik iš OD ir MZ mišinių gautų hidrolizatų terminės hidrolizės metu, taigi tolimesni tyrimai buvo atlikti tik po 4 val. hidrolizės gautais hidrolizatais.

Kaip buvo minėta literatūros apžvalgoje, rapsai pasižymi labai dideliu maisto medžiagų poreikiu, neretai daug didesniu negu jų gali būti dirvožemyje, todėl tik tinkamai naudojant trąšas galima užauginti optimalų jų derlių [3]. Svarbu buvo nustatyti, kokį poveikį gauti terminės hidrolizės būdu po 4 val. baltymų hidrolizatai (BH) turi rapsų daigumui ir jų kokybiniam rodikliams (3.4 lentelė.). Norint įvertinti gautų BH įtaką rapsų daigumui ir kokybei į rapsų mitybinę terpę (MS) buvo pridėta 2 arba 10 % gautų BH. Buvo nustatytas rapsų daigumas, bei jų biometriniai rodikliai, tokie kaip daigo aukštis, šaknų ilgis ir užauginta biomasė. Gauti rezultatai pateikti 3.6 lentelėje. Kaip kontrolinis variantas buvo pasirinktas OD (100) hidrolizatas gautas tik iš OD terminus hidrolizės būdu po 4 val. apdoravimo.

3.6 lentelė. MZ ir OD mišinių gautų terminės hidrolizės būdu įtaka rapsų daigumui ir kokybei

Žaliava	Hidrolizato kiekis mitybinėje terpėje, %	Daigumas, %	Vidutinis daigo aukštis, cm	Šaknų ilgis, cm	Biomasė, g
OD (100)	2	60	1,8	0,4	0,9
	10	60	1,3	0,3	0,9
MZ/OD (50:50)	2	48	1,5	1,0	0,3
	10	74	2,1	1,2	1,0
OD/MZ (25:75)	2	37,5	3,3	2,00	0,3
	10	35	5,7	6,8	0,5
OD/MZ (75:25)	2	65	4,4	5,4	0,6
	10	40	4,6	7,3	0,7

Kaip matyti iš 3.6 lentelės OD (100) ir OD/MZ (25:75) hidrolizato įdėjimas į mitybinę terpę teigiamos poveikio daigumui neturėjo. Teigiamą poveikį turėjo 10 % MZ/OD (50:50) hidrolizatas su kuriuo gautas didžiausias daigumas 74 % , taip pat gauta ir didžiausia augalo biomasė 1,0 g. Didžiausias vidutinis daigo aukštis 5,7 cm gautas įdėjus 10 % OD/MZ (25:75) hidrolizato, taip pat šio hidrolizato įdėjimas turėjo teigiamą poveikį šaknų ilgiui. Ilgiausias šaknų ilgis 7,3 cm gautas įdėjus 10 % OD/MZ (75:25) hidrolizato.

Norint įvertinti BH įtaką rapsų kokybei, kaip baltymų kiekis rapse buvo pasirinktas kaip rapsų kokybę įvertinantis rodiklis. Rapsų baltymai vertingi tuo, kad juose yra žymiai didesnis kiekis svarbių nepakeičiamų aminorūgščių tokių kaip lizinas, treoninas, triptofanas ir kt. [23]. Baltymų kiekis buvo nustatytas užaugintuose rapsuose, naudojant tris skirtingų pH verčių buferius (jų sudėtis nurodyta 2.3.3 skyriuje). Gauti rezultatai pateikti 3.7 lentelėje.

3.7 lentelė. Baltymų kiekis užaugintuose rapsuose

Žaliava	Hidrolizato kiekis mitybinėje terpėje, %	Baltymų kiekis buferyje, mg/100 mg		
		1	2	3
OD (100)	10	12,0	11,6	12,4
	2	4	2	18,3
OD/MZ (75:25)	10	2	2,4	5,6
	2	3	7,5	5,2
OD/MZ (50:50)	10	2	4,8	5
	2	8	4,4	10,2
OD/MZ (25:75)	10	6	4,6	5,4
	2	16	2,6	2,6
-	MS (kontrolė)	12,8	10,4	10,0

Iš 3.7 lent. pateiktų rezultatų matyti, jog baltymų kiekis rapsuose kinta nuo 2 mg/100 mg iki 18,3 mg/100mg. Su OD (100) hidrolizatu 2 % rapsus ekstrahuojant 3 buferiu buvo nustatytas apie 24 % didesnis baltymų kiekis lyginant su kontrole, o su 10 % OD (100) hidrolizatu – 2 kartus didesnis kiekis. Kiti hidrolizatai neturėjo teigiamo poveikio baltymų kiekiui rapsuose.

Taigi, apibendrinus gautus rezultatus galime daryti išvadą, jog didžiausią poveikį rapsų daigumui ir jų kokybiniais rodikliais turėjo 10 % MZ/OD (50:50) hidrolizato priedas. Daugiausiai baltymų nustatyta dedant į MS 10 % OD (100) hidrolizato.

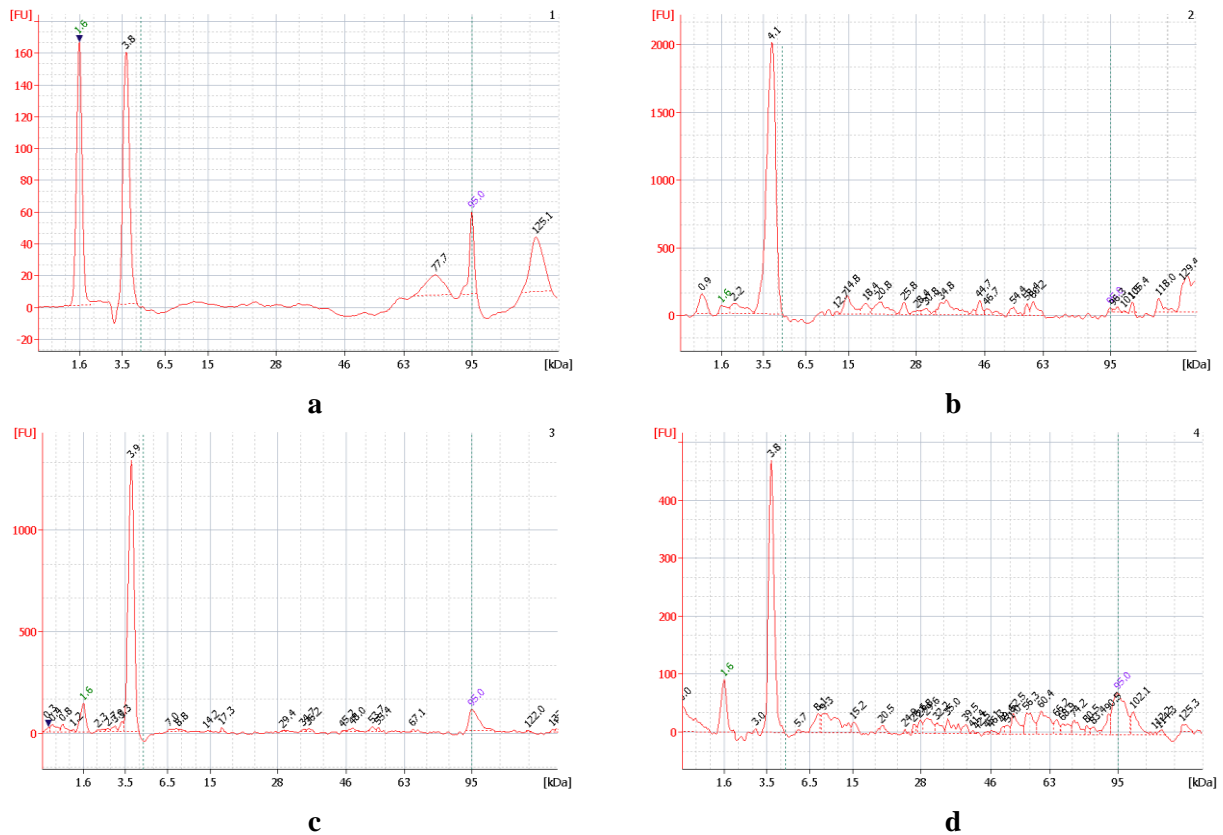
3.4 Plėvelių gautų iš baltyminių odų pramonės atliekų savybės

Gamtiniai polimerai (biopolimerai) yra perspektyvi alternatyva šiuo metu rapsų sėklų dangoms naudojamiems sintetiniams polimerams tokiems kaip polivinilo alkoholis ar polivinilo acetatas. Biopolimerai labiausiai vertinami dėl savo bioskaidumo, kas leidžia sumažinti jų poveikį aplinkai. Vienas iš darbo tikslų yra gauti bioskaidžią plėvelę rapsų sėkloms apdoroti, norint pakeisti šiuo metu naudojamus polimerus, o plėvelės irimo metu gauti trąšą rapsui. Todėl buvo tirtas gautų BH plėvelių bioskaidumas.

Bioskaidumas yra negrįžtamas procesas, kuris vykdomas mikroorganizmų, pavyzdžiui, bakterijų ir grybų, kur organinės medžiagos yra suskaidomos į paprastesnius junginius [74]. Polimerų bioskaidumas vyksta dviem etapais: depolimerizacija ir mineralizacija. Bioskaidumas priklauso nuo medžiagos cheminės struktūros ir sudėties (molekulinės masės, lydymosi, stiklėjimo temperatūros, tampros modulio, kristališkumo laipsnio) ir aplinkos, kurioje bioskaidumas vyksta (temperatūra, aerobinės ar aneorobinės sąlygos, vandens kiekis).

Kadangi medžiagų bioskaidumas priklauso nuo molekulinės masės, pirmiausiai buvo nustatyta BH esančių baltymų molekulinė masė, tam tikslui buvo pasirinktas kapiliarinės elektroforezės metodas. Gauti rezultatai pateikti 3.13 paveiksle. Kaip matyti, mažesnės molekulinės masės baltymų gaunama daugiau, kai hidrolizatas gautas iš mišinio, kuriame buvo

įdėta daugiau MZ (3.4 pav. b ir d). Taigi, galima būtų teigti, kad tokių plėvelių bioskaidumas bus didesnis.



3.13 pav. OD ir MZ mišinių hidrolizatuose esančių vandenyje tirpių baltymų molekulinės masės po 4 val. terminės hidrolizės: **a** – OD (100); **b** – OD:MZ (50:50); **c** – OD:MZ (75:25); **d** – OD:MZ (25:75).

Sekantis tyrimas buvo gautų plėvelių bioskaidumas įvertintas. Jis buvo nustatomas dviem būdais: kompostuojant apibrėžtomis sąlygomis ir uždarame respirometre *Oxitop* vandeninėje terpėje. Kaip žinomas, kompostas yra žymiai palankesnė terpė polimerų skilimui nei vanduo, dėl didesnio mikroorganizmų kiekio jame [76]. Todėl norint tiksliau įvertinti polimero bioskaidumą jį reiktų nustatyti abiem metodais.

Kompostavimas yra biologinis procesas, kai atliekos yra skaidomos veikiant mikroorganizmams aerobinėmis sąlygomis. Pirmiausiai gautos BH plėvelės terminės hidrolizės būdu buvo kompostuojamos pagal standartą ISO 20200:2015 [67]. Kiekvienai eksperimentinei grupei buvo suformuotos trys plėvelės, kurių masė ir storis yra pateikti 3.9 lentelėje. Komposto pradinis C:N santykis buvo 24,1 %, kompostavimo temperatūra – 55 ± 5 °C ir drėgnis – 50 ± 5 % . Kompostavimo trukmė pagal standartą turi būti 3 mėnesiai ir plastikas laikomas bioskaidžiu jei per 3 mėnesius, aukščiau nurodytomis sąlygomis, suyra 60 % plėvelės. Bioskaidumas yra vertinamas plėvelės masės nuostoliais, po vieną bandinį išimant iš konteinerio

kas mėnesį. Šio darbo metu patikrinus konteinerį, jau po 14 dienų kompostavimo visos BH plėvelė buvo visiškai suirusios (3.9 lent.).

3.9 lentelė. Gautų BH plėvelių bioskaidumo kompostuojant apibrėžtomis sąlygomis įvertinimas

Žaliava	Plėvelės rodikliai				Bioskaidumas, %
	Masė, g	Storis, mm	Drėgnis, %	Sausų medžiagų kiekis, %	
OD/MZ (25:75)	0,3966	0,098	97,2	2,8	100
	0,4021	0,112			
	0,4254	0,082			
OD/ MZ (50:50)	0,5096	0,186	95,0	4,5	100
	0,5078	0,160			
	0,5080	0,154			
OD/ MZ (75:25)	0,4327	0,302	95,5	5,0	100
	0,4331	0,362			
	0,4375	0,258			
OD (100)	0,6843	0,098	93,3	6,7	100
	0,6881	0,112			
	0,6851	0,082			

Kompostas, kuris buvo gautas po 14 dienų kompostuojant BH plėvelės, buvo kokybiškai sumaišytas ir nustatyta BH įtaka, kaip galimos trąšos, rapsų daigumui ir užaugintai biomasei. Tam buvo gauta komposto ištrauka, kuria buvo suvilgytas (2 ml) filtrinis popierius ir ant jo daiginama 10 rapsų sėklų. Rapsai buvo auginami 28 °C temperatūroje. Jų daugumas buvo įvertintas po 3 dienų, norint įvertinti BH kaip galimo augimo stimulatoriaus poveikį rapsams, o užaugusių rapsų biomasė nustatyta po 10 dienų auginimo. Kaip kontrolinis variantas buvo pasirinktas vanduo, o „tuščias“ bandinys buvo komposto be priedų ištrauka. Gauti rezultatai pateikti 3.10 lentelėje.

3.10 lentelė. BH plėvelių kaip trąšos įtaka rapsų daigumui ir kokybei

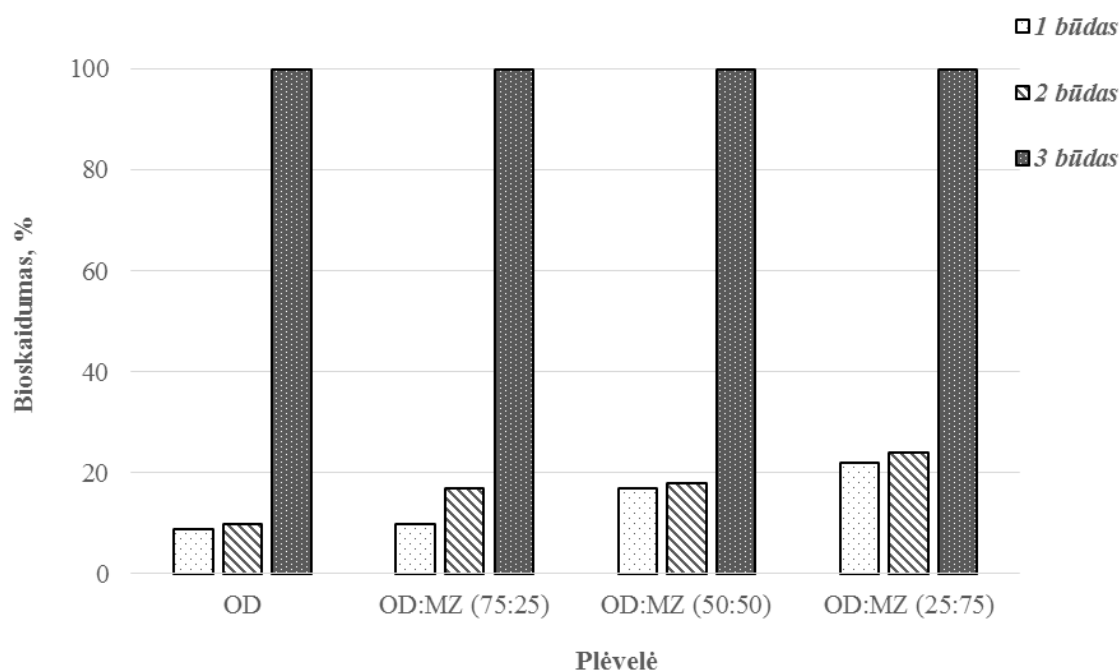
Žaliava	Komposto ištraukos pH vertė	Daigumas,%	Biomasė, g
OD/MZ (50:50)	7,97	86,7	0,5540
OD/ MZ (25:75)	7,97	90	0,8784
OD/ MZ (75:25)	7,93	100	0,9020
OD (100)	8,08	90	1,3520

Pastaba: kontrolės (H₂O) daigumas – 73,3 %, biomasė – 0,1434 g; komposto be priedų pH – 6,7, daigumas – 86,7 %, biomasė – 0,6283 g.

3.10 lentelėje pateikti rezultatai, parodė, kad didžiausia rapsų biomasė (1,3520 g) buvo užauginta ant komposto su OD (100) hidrolizato priedu ištraukos, o mažiausia (0,1434 g) ant

vandens. Didžiausias daigumas 100 % buvo gautas ant komposto su OD/MZ (75:25) hidrolizato priedu. Lyginant rapsų daigumą galima teigti, kad didesnis jų daigumas gaunamas, kuomet BH žaliavų mišinyje yra didesnis mėzdrių kiekis, nes mėzdras yra lengviau suskaidomos į mažesnės molekulinės masės peptidus ir polipeptidus, tačiau kolageno kiekis jose yra mažesnis nei odos nuopjovose, todėl kai BH mišinys yra OD/MZ (75:25) gautas daigumas yra 100 %. Tačiau, didesnę augalo biomasę užauginama kai BH mišinyje yra daugiau odos nuopjovų.

Buvo atliktas ir BH plėvelių bioskaidumo vandeninėje terpėje tyrimas, pagal ISO 14851:1999 [75]. Vertinat bioskaidumą šiuo metodu naudojamas uždaras respirometras *Oxitop*, kuriame yra matuojamas slėgio pokytis, kuris kinta dėl mikroorganizmų veiklos suvartojamo O₂. Eksperimentas buvo atliktas dedant 2 ir 5 % inokulianto, trukmė – 14 dienų. Gauti rezultatai pateikti 3.14 paveiksle.



3.14 pav. Plėvelių bioskaidumo priklausomybė nuo jo nustatymo būdo: **1 būdas** – *Oxitop* ir 2 % inokulianto; **2 būdas** – *Oxitop* ir 5 % inokulianto; **3 būdas** – kompostavimas apibrėžtomis sąlygomis.

Kaip matyti 3.14 paveikslo, BH plėvelių bioskaidumas *Oxitop* uždareme respirometre yra ženkliai mažesnis, o padidinus inokulianto kiekį 2,5 karto, bioskaidumas padidėjo nežymiai tik 10 %. Gaunamas daugiau kaip 5 kartus mažesnis BH bioskaidumas. Kaip ir buvo minėta vandeninėje terpėje bioskaidumo vertė gaunama mažesnė, tačiau šiuo atveju skirtumas yra pernelyg didelis. Tai galima būtų aiškinti skaičiavimo netikslumu, nes skaičiuojant reikia įvertinti monomero grandies molekulinę masę, kai tuo tarpu kolageno monomero grandis,

skirtingai nei kitų polimerų, nėra nuosekli pasikartojanti seka. Tačiau, tyrimo rezultatai parodė, kad kuo pradinėje BH kompozicijoje buvo dėta daugiau odos nuopjovų, tuo mažesnis gautas plėvelės bioskaidumas. Tai galima aiškinti didesne baltymų, esančių BH molekuline masė.

Iš gautų rezultatų galima daryti išvadą, jog BH plėvelių bioskaidumas yra didesnis, kuo daugiau į pradinį žaliavų mišinį dedama daugiau MZ.

Labai svarbu, kad sėklos padegtos danga tarpusavyje nesuliptų sandėliuojant ar sėjant, ką lemia plėvelės hidrofilinės savybės [77]. Tačiau jei danga bus pernelyg hidrofobinė, patekusi į dirva sėkla sunkiau sudygs. Plėvelių hidrofiliškumui įvertinti buvo nustatytas vilgumo kampas, kuris pateiktas 3.8 lentelėje. Kaip kontrolinis bandinys pasirinkta polietileno plėvelė.

3.8 lentelė. Plėvelių mechaninės ir fizikinės savybės

Žaliava	Plėvelės vilgumo kampas, °
OD/ MZ (25:75)	39,9
OD/MZ (50:50)	41,0
OD/ MZ (75:25)	58,9
OD (100)	63,5
PE (kontrolė)	82,3

Kaip matyti, BH plėvelių vilgumo kampas gautas tuo didesnis, kuo daugiau mišinyje yra OD. Taigi, galima teigti, kad kuo daugiau BH didesnės molekulinės masės baltymų, tuo plėvelė bus hidrofobiškesnė.

Nemažiau svarbu yra ištirtis plėvelių fizikines ir mechanines savybes. Tyrimams buvo pasirinktos tokios BH ir priedų kompozicijos, kurios nurodytos 3.9 lentelėje, plėvelėms formuoti. Dedamas priedų kiekis buvo skaičiuojamas nuo plėvelės sausų medžiagų kiekio. Kaip priedai, buvo pasirinktas glicerolis ir polivinilo alkoholis (PVA). PVA įprastai naudojamas sėklų dangai formuoti, o glicerolis pasirinktas kaip plastifikatorius. Gautos plėvelės buvo džiovintos kambario temperatūroje. Tirta priedų įtaka plėvelės fizikinėms ir mechaninėms charakteristikoms. Buvo nustatyti šie plėvelių mechaniniai rodikliai: stipris tempiant, ištįsa trūkstant ir apskaičiuotas tampros modulis. Gauti rezultatai pateikti 3.9 lentelėje.

3.9 lentelė. Plėvelių mechaninės ir fizikinės savybės

Liejimo kompozicijos sudėtis			Mechaninės ir fizikinės savybės		
Kolageno hidrolizatas	PVA, %	Glicerolis, %	Stipris tempiant, MPa	Ištįsa trūkstant, %	Tampros modulis, N/mm ²
PVA (kontrolė)	10	0	5,83	6,74	1747,87
OD (100)	0	0	19,48	0,82	2034,6
	5	0	16,78	0,82	1127,75
	10	0	15,46	0,89	1015,78
	0	1	16,78	1,94	687,59
	5	1	3,39	34,13	376,46
	10	1	2,14	32,82	117,24
OD/ MZ (75:25)	0	0	24,52	1,17	1057,30
	5	0	23,89	0,88	3128,44
	10	0	15,26	0,77	1987,60
	0	1	1,12	204,72	3,11
	1	1	3,00	199,56	10,76
	5	1	1,68	212,09	1,55
	10	1	1,15	179,16	2,48
OD/MZ (50:50)	0	0	21,79	0,78	1765,28
	5	0	8,37	0,66	1136,04
	10	0	12,82	0,69	1861,89
	0	1	0,78	233,19	1,13
	1	1	4,03	225,80	7,88
	5	1	2,38	1,97	1,91
	10	1	-	-	-
OD/ MZ (25:75)	0	0	14,40	0,37	3554,08
	5	0	0,73	0,45	180,17
	10	0	-	-	-
	0	1	-	-	-
	1	1	-	-	-
	5	1	-	-	-
	10	1	-	-	-

Pastaba: „-“ – parametru nustatyti nepavyko.

Gauti rezultatai (3.8 lent.) parodė, kad priedai turėjo įtakos plėvelių fizikiniams ir mechaniniams rodikliams. Didžiausias stipris tempiant (24,52 MPa) gautas, kai plėvelės kompozicijos yra OD/MZ (75:25) ir 5 % PVA, o mažiausias (0,73 MPa), kai plėvelės kompozicija – OD/MZ (25:75) ir 5 % PVA.

Taigi, galima daryti išvadą, kad didėjant MZ kiekiui plėvelės stipris mažėja. Taip pat abu priedai tiek glicerolio, tiek PVA padidino plėvelių ištįsą trūkstant ir sumažino jų stiprį tempiant.

Išvados

1. Nustatyta, kad baltyminių odų pramonės atliekų sudėtis skirtinga. Bendras baltymų kiekis mėzdruose yra 436,9 g/kg ir kolageninių baltymų – 125,84 g/kg, o odos atitinkamai yra 901,97 g/k ir 665,32 g/kg. Didžiausias pelenų 22,8 % ir dichlormetane tirpių medžiagų kiekis 4,85 % nustatytas mėzdruose. Odos nuopjovose ir mėzdrose bendras ir kolageninių baltymų kiekis skiriasi atitinkamai 28,2 % ir 72,0 %. Nekolageninių baltymų didesnis kiekis nustatytas mėzdruose –

71,20 %.

2. Nustatyta, kad terminė mėzdrių ir odos nuopjovų hidrolizė efektyvesnė nei fermentinė. Didėjant odos nuopjovų kiekiui baltyminių odų pramonės atliekų mišiniuose, gautuose hidrolizatuose tiek terminės, tiek fermentinės hidrolizės būdais hidroksiprolino kiekis ir bendrojo azoto kiekis taip pat didėja.

2.1 Nustatyta, kad vykdant terminę hidrolizę 90 °C temperatūroje, esant substrato ir vandens santykiui 1:200 iš OD/MZ (25:75), OD/MZ (50:50) ir OD/MZ (75:25) mišinių hidrolizatų galima suformuoti plėvelę, jau po 4 val. apdorojimo.

2.2 Fermentinei hidrolizei naudojant 2 % ž.m. FP *Oropon ON2*, 55 °C temperatūroje, esant substrato ir vandens santykiui 1:200 plėvelės suformuoti nei iš vieno iš baltyminių odų pramonės atliekų gautų hidrolizatų, nepavyko.

3. Rapsų daigumui ir jų kokybiniams rodikliams didžiausią poveikį turėjo iš mėzdrių ir odos (50:50) mišinio gautas hidrolizatas.

4. Nustatyta, kad kuo daugiau baltyminių odų atliekų hidrolizato mišinyje yra mėzdrių, tuo gautų plėvelių bioskaidumas yra didesnis. Gauta, kad plėvelių vilgumo kampas tuo didesnis, kuo daugiau tokiame mišinyje dedama odos nuopjovų. Nustatyta, kad didėjant mėzdrių kiekiui hidrolizato mišinyje, plėvelės stipris mažėja. Glicerolio ir polivinilo alkoholio priedai padidina gautų plėvelių ištįsą trūkstant ir sumažina jų stiprį tempiant.

Literatūros sąrašas

1. JANUŠAUSKAITĖ, D ir V. MAŠAUSKAS . Žieminių ir vasarinių kviečių derliaus ir grūdų kokybės priklausomumas nuo azoto trąšų normų. *Žemdirbystė: mokslo darbai*, 2004, 88, 48-64. ISSN 1392-3196.
2. Lietuvos respublikos ir ilgalaikės gyvulinkystės plėtros strategijos iki 2020 metų koncepcija [interaktyvus]. Žiūrėta [2016-03-27]. Prieiga per internetą: [file:///C:/Users/Inetuke/Desktop/Vsio/Gyvulininkyst%C4%97s_koncepcija.pdf].
3. KUČINSKAS, J. ir kt., *Agrochemija*. Kaunas, 1999.
4. KINDERIENĖ, I. Organinių trąšų ir tarpinių pasėlių poveikis eroduoto dirvožemio fizikinėms savybėms. *Žemdirbystė: mokslo darbai*. 2009, 93 (2), 40-53.
5. MALINIS, K. ir kt. Propertees of rapseed oil fatty acid alkyl esters derived from different alcohols. *Fuel*. 2014, 137, 28-35.
6. POLIAKOFF, J ir kt. Green Chemistry: Science and Politics of Change. *Science*. 2002, 297, 807-810.
7. PHAM, L.G and G. RAME. Influence of seed coating with synthetic polymers and chemicals on seed quality and storability of hybrid rice (*Oryza sativa L.*). *Omonrice 15*. 2007, 15, 68-74.
8. Europos parlamento ir tarybos direktyva 2008/99/EB [interaktyvus]. Žiūrėta [2016-03-31]. Prieiga per internetą: http://publications.europa.eu/resource/cellar/94cc97ca-e070-4bf2-9219-380079ba8ce3.0013.03/DOC_1.
9. Food and agiculture organizacion of the united nations [interaktyvus]. Žiūrėta [2016-04-06]. Prieiga per internetą: <http://www.fao.org/home/en/> .
10. BRAZIENĖ, J ir kt. N-(4-Metoksi-2-nitrofenil)-β-alanino natrio druskos poveikis vasarinių rapsų (*Brassica napus L.*) derliaus kokybei. *Cheminė technologija*. 2012, 1 (59), 46-53. ISSN 1392-1231.
11. BERNOTAS, R. Sėkloms auginamų rapsų agrotechnika. *Žemdirbystė: mokslo darbai*. 1999, 67, 205-220.
12. BERNOTAS, S. ir E. V. MINEIKIENĖ. Boro įtaka žieminiams rapsams kalkintoje dirvoje. *Žemdirbystė: mokslo darbai*. 2000, 71, 120-134.
13. MIKULIONIENĖ, Sabina ir kt. Rapsų sėklų ir kai kurių jų produktų cheminiai tyrimai. *Veterinarija ir zootechnika*. 2006, 36 (58), 60-63. ISSN 1392–2130.
14. MONTVILAS, R. ir MITTAS, V. Sėjos laiko ir sėklos normos įtaka žieminių rapsų sėklų derliui lengvuose priemoliuose. *Žemdirbystė: mokslo darbai*. 2000, 72, 103–117

15. DIRSĖ A. Žemės ūkio augalų vegetacijos laikotarpių drėgmingumas. *Žemės ūkio mokslai*. 2001, 3, 51–56.
16. JUVENCIJUS, Petrus. *Visuotinė lietuvių enciklopedija*. Vilnius, 2001. ISBN 5420014866.
17. LAZAUSKAS, J. *Augalinkystė Lietuvoje 1895-1995: monografija*. Lietuvos žemdirbystės institutas, Dotnuva –Akademija, 1998, 388.
18. RIZK, A.M. *The Phytochemistry of the Flora of Qatar*. Scientific and Applied Research Centre, University of Qatar, Kingprint: Richmond. UK, 1986, 41-218.
19. KOCH, M. ir kt. Molecular systematics of the *Brassicaceae*: evidence from coding plastidic MATK and Nuclear CHS sequences. *American Journal of Botany*, 2001, 88 (2), 534–544.
20. O'Brien R. D. *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications*. Florida: CRC Press, 2007. 766. ISBN 9781420061666.
21. VELIČKA R. Sėkloms auginamų rapsų agrotechnikos moksliniai. *Žemės ūkio mokslai*. 2002, 1, 27-40. ISSN 1392-0200.
22. MIKOLIONIENĖ S. ir kt. Rapsų sėklų ir kai kurių jų produktų cheminiai tyrimai. *Veterinarija ir zootechnika*. 2006, 36 (58), 60-63. ISSN 1392–2130.
23. JEROCH, H. Rapsų sėklų ir jų produktų reikšmė gyvūnų mitybai ir gyvūninio maisto produktų kokybei. *Žemės ūkio mokslai*. 2008, 15 (4), 40-52.
24. ŠEŠKEVIČIENĖ, J. ir kt. Gehalte an Zellwandsubstanzen und Glucosinolaten von Rapssamen aus litauischem Anbau. *Tagung Schweine- und Geflügelernährung*. Lutherstadt Wittenberg, 2000, 277–279.
25. Kracht, W ir kt. Futterwert von Extraktionsschrot aus geschälter Rapssaar für Mastschweine, Ferkel, Broiler und Legehennen. *UFOP-Schriften*. 1998, 10, 9 -74.
26. BURBULIS, N. Ir kt. Vasarinio rapso dihaploidinių linijų sėklų kokybė vertingų rekombinantų atranka. *Selekcija ir sėklininkystė*. 2001, 3, 37-41. ISSN 1392-0200.
27. ERASMUS, U. *Fats That Heal, Fats That Kill: The Complete Guide to Fats, Oils, Cholesterol and Human Health*. Kanada: 1996. 11-73.
28. SCARTCH, R. ir MCVETTY, P.B.E. Designer oil canola – a review of new food-grade brassica oils with focus on high oleic, low linolenic types. *In proceedings of the International Rapeseed Congress*. Canberra, Australia: 1999.
29. KRACHT W. ir kt. Rapsas kiaulėms ir paukščiams. Mokslo praktinis seminaras "Rapsas gyvulių ir paukščių racionuose". Kaunas, 1993. P. 10-31.

30. Trinsoutrot, I. ir kt. Assessment of the biochemical composition of oilseed rape (*Brassica naps L.*) ¹³C-labelled residues by global methods, FTIR and ¹³C NMR CP/MAS. *Plant and Soil*. 2001, 234, 61–72.
31. JEROCH, H. ir kt. Futterwertbeeinflussende Inhaltsstoffe in Rapssamen und Nebenprodukten der Rapsverarbeitung. *Erster Litauisch-Deutscher Rapstag-Tagungsbeiträge*. 2001, 28, 20-23.
32. GRIFFITHSiff, D. W. ir kt. Identification of glucosinolates on the leaf surface of plants from the Cruciferae and other closely related species. *Phytochemistry*, 2001, 57 (5), 693 - 700.
33. ANDERSSON, C ir kt. Glucosinolates as undesirable substances in animal feed: Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *The EFSA Journal*. 2008, 590, 1–76.
34. HALKIER, B. A. ir J. GERSHENZON. Biology and biochemistry of glucosinolates. *Annual Review of Plant Biology*. 2006, 57 (1), 303–333.
35. JANUŠKEVIČIŪTĖ, K. ir A. ŠALUCHAITĖ. Rapsų ligos ir pasauga [interaktyvus]. [žiūrėta 2016-02-08]. Prieiga per internetą: <http://manoukis.lt/mano-ukis-zurnalas/augalininkyste/678-rapsu-ligos-ir-apsauga>.
36. VELIČKA, R. R., A. MARCINKEVIČIENĖ ir R. KOSTECKAS. Pasėlio tankumo ir tręšimo įtaka vasarinių rapsų cheminei sudėčiai žydėjimo tarpsnyje ir derliui. *Žemės ūkio mokslai*. 2011, 18 (3), 109–117.
37. JAKIENĖ, E. ir V. SPRUOGIS. Biologinių preparatų ir bioorganinių trąšų naudojimas cukrinių runkelių pasėliuose. *Žemės ūkio mokslai*. 2015, 22 (3), 107-120.
38. PINHERO A. ir kt. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Oxford journal*. 2011, 103 (4), 551-560.
39. OZGUNAY, H. ir kt. Characterization of Leather Industry Wastes. *Polish J. of Environ. Stud.* 2007, 16 (6), 867-873.
40. COLAK S. ir kt. Utilisation of Leather Industry Prefleshings in Biodiesel Production. *Jalca*. 2005, 100 (3), 4, 137.
41. GISHA. J. ir kt. Leatherboard, a practical use of tannery offal. *Jalca*. 2000, 95 (2), 43.
42. LANGMAIER F. ir kt. Products of Enzymatic Decomposition of ChromeTanned Leather Waste. *Jsltc*. 1999, 83 (4), 187.
43. SUNDAR V. J. ir kt. Recovery and utilization of proteinous wastes of leather making: a review. *Rev Environ Sci Biotechnol*. 2011,10, p. 151–163.

44. PATI, A., R. CHAUDHARY, S. SUBRAMANI. A review on management of chrome-tanned leather shavings: a holistic paradigm to combat the environmental issues. *Environmental Science and Pollution Research*. 2014, 21 (14), 11266-11282.
45. GAIDAU, C. ir kt. New mixes based on collagen extracts with bioactive properties, for treatment of seeds in sustainable agriculture. *Curr Pharm Biotechnol*. 2013, 14(9), 792-801.
46. LANGMAIER, F. ir kt. Modification of chrome-tanned leather waste hydrolysate with epichlorhydrin. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*. 2005, 90, 29.
47. KANAGRAJ, J. ir kt. Solid wastes generation in the leather industry and utilization for cleaner environment – A review. *Journal of Scientific and industrial research*. 2006, 65, 541-548.
48. KIETLY, C., M. I. HOPKINSON ir M. E. GRANT. Molecular, Genetic and Medical Aspects. *New York: Wiley–Liss Inc.* 1993, 103–147.
49. TAPIA, D. M. T * ir M. A. L. GARCIA. Production and partial characterization of keratinase produced by a microorganism isolated from poultry processing plant wastewater. *African Journal of Biotechnology*. 2008, 7 (3), 296-300.
50. Širvaityė, J. Odų išdirbimo technologija, nukalkinant peroksiacto rūgštimi. *Daktaro disertacija: technologijos mokslai, chemijos inžinerija*. Kauno technologijos universitetas. 2009, 10-11.
51. WANG, W. ir kt. Comparison between Thermal Hydrolysis and Enzymatic Proteolysis Processes for the Preparation of Tilapia Skin Collagen Hydrolysates. *Czech J. Food Sci*. 2013, 31 (1), 1-4.
52. KUMARAGUR, S., T.P. SASTRY ir C. ROSE. Hydrolysis of tannery: fleshings using pancreatic enzymes: a biotechnological tool for solid waste management. *Journal of the American Leather Chemists Association*. 1998, 93 (2), 32-39.
53. NISHADI, F. ir kt. Tannery Solid Waste to Treat Toxic Liquid Wastes: A New Holistic Paradigm. *Environmental engineering science*. 2012, 26 (9), 363-372.
54. CHAKARSKA, I. Ir kt. Isolation and characterization of phosphoric acid-soluble collagen from leather wastes of pig breed Bulgarian white. *Journal- Society of Leather Technologists and Chemists*. 2006, 90 (6), 260-263.
55. CHAKARSKA, I. Ir kt. Investigation on chemical cross-linked collagen phosphoric acid hydrolysates with cyanuric chloride by differential scanning calorimetry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*). 2010; 102(1), 1-7.

56. GOUSTEROVA, A. ir kt. Development of a biotechnological procedure for treatment of animal wastes to obtain inexpensive biofertilizer. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2008, 24(11), 2647-2652.
57. CAVANI, L., C. CIAVATTA ir C. GESSA. Identification of organic matter from peat, leornadite and lignite fertilisers using humification parameters and electrofocusing. *Bioresource Technology*. 2003, 86, 45-52.
58. COLLA, G. ir kt. Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis. *Front Plant Sciences* [interaktyvus]. 2014, 5, 448 [žiūrėta 2016-05-19]. Prieiga per doi: [10.3389/fpls.2014.00448](https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00448).
59. LANGMAIER, F. ir kt. Modification of chrome-tanned leather waste hydrolysate with epichlorhydrin. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*. Vol. 2005, 90, 29.
60. SIRBU, C. ir kt. Fertilizers with protein chelated structures with biostimulator role [interaktyvus]. Žiūrėta [2016-05-19]. Prieiga per internetą: [\[https://www.researchgate.net/publication/267683960_Fertilizers_with_Protein_Chelated_Structures_with_Biostimulator_Role\]](https://www.researchgate.net/publication/267683960_Fertilizers_with_Protein_Chelated_Structures_with_Biostimulator_Role).
61. GAIDAU, C. ir kt. New mixes based on collagen extracts with bioactive properties, for treatment of seeds in sustainable agriculture. *Cur. Pharm. Biotechnol.* 2013, 14(9), 792-801.
62. LIETUVOS STANDARTIZACIJOS DEPARTAMENTAS. [LST ISO 5397:2001]. *Azoto kiekio ir baltyminės medžiagos nustatymas. Titrimetrinis metodas*.
63. ЗАЙДЕС, А., А. МИХАЙЛОВ, О. ПУШЕНКО. Модифицированный метод определения оксипролина. *Биохимия*. 1964, 1, 5–7.
64. TANG, K., F. WANG, J. LIU. Preliminary studies on the thermal degradation kinetics of cattlehide collagen fibers. *Journal of the American Leather Chemists Association*. 2004, 99. 401-408. ISSN 0037–9921.
65. LIETUVOS STANDARTIZACIJOS DEPARTAMENTAS. [LST EN ISO 4045:2001] *Oda. pH nustatymas*.
66. [ASTM D882]. *Tensile Testing of Thin Plastic Sheeting*.
67. The International Organization for Standardization. [ISO 20200:2015]. *Plastics – Determination of the degree of disintegration of plastic materials under simulated composting conditions in a laboratory-scale test*.
68. LANGMAIER, F. ir kt. Plasticizing collagen hydrolysis with glycerol and low-molecular weight poly(ethyleneglycols). *Thermochimica acta*. 2008, 469, 52-58. ISSN 0040–6031.

69. SELVAKUMAR, P. ir kt. Enzymatic hydrolysis of bovine hide and recovery of collagen hydrolysate in aqueous two-phase systems. *Separation and Purification Technology*. 2012, 89, 282-287.
70. CORTE, L. ir kt. Assessment of safety and efficiency of nitrogen organic fertilizers from animal-based protein hydrolysates – a laboratory multidisciplinary approach. *Journal of the science of food and agriculture*. 2014, 94 (2), 235-245.
71. JOHNSTON, N. Ir kt. Pepsin and carbonic anhydrase isoenzyme III as diagnostic markers for laryngopharyngeal reflux disease. *The Laryngoscope*. 2014, **114** (12), 2129–2134.
72. BHASKAR, N. ir kt. Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. *Bioresource Technology*. 2008, 99 (2), 335-343.
73. BAEK, H.H. ir kt. Enzymatic Hydrolysis of Crayfish Processing By-products. *Journal of food science*. 1995, 60 (5), 929-935.
74. BASTIOLI, C. *Handbook of Biodegradable Polymers*. Rapra Technology Ltd., Shreswbury, UK, 2005. ISBN: 978-1859573891.
75. The International Organization for Standardization. [ISO 14851:1999]. *Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in an aqueous medium – Method by measuring the oxygen demand in a closed respirometer*.
76. HARTIKAINEN, S. Biodegradability of nonwoven fabrics. *Bachelor's thesis*. Tampere University of Applied Sciences. 2015, 67.
77. ROTCH, J. Design of Seed Coatings – Connecting polymer properties with overall performance through method development. *Master of Science Thesis, Department of Chemical and Biological Engineering*, Chalmers University of Technology. 2014,45.

MOKSLINĖS PUBLIKACIJOS IR DALYVAVIMAS MOKSLINĖSE KONFERENCIJOSE

Straipsniai

Lietuvos mokslo tarybos patvirtinto sąrašo tarptautinėse duomenų bazėse referuojamuose leidiniuose

1. Kęstutis Beleška, Justa Širvaitytė, Rasa Alaburdaitė, Virgilijus Valeika, Ineta Komičiūtė. Fermentinių preparatų panaudojimo odoms išdirbti tyrimas // Cheminė technologija. Kaunas. Technologija. (priimtas spausdinti)

Konferencijos

1. Komičiūtė Ineta, Širvaitytė Justa, Jonuškienė Ilona, Valeika Virgilijus. Rich by collagen recycled solid waste of leather as nitrogen source for agriculture. „The 9th Vital Nature Sign 2015“. International scientific conference. Vytautas Magnus University, Kaunas, 2015.

2. Beleška Kęstutis, Komičiūtė Ineta, Alaburdaitė Rasa, Širvaitytė Justa, Valeika Virgilijus. Influence of metal ions additives on enzymatic hide unhairing in oxidative medium. International conference „Chemistry & Chemical Technology 2016“, Vilnius University, Vilnius, 2016.

3. Širvaitytė Justa, Komičiūtė Ineta, Teišerskytė Kristina, Beleška Kęstutis, Valeika Virgilijus. Fito-oda. „Technorama 2016“, Kauno technologijos universitetas, Kaunas, 2016.