

Fermentinių preparatų panaudojimo odoms išdirbti tyrimas

K. Beleşka, J. Širvaitytė, R. Alaburdaitė, I. Komičiūtė, V. Valeika

Kauno technologijos universitetas,
Radvilėnų pl. 19, LT-50254 Kaunas, Lietuva
El. paštas virgilijus.valeika@ktu.lt

crossref <http://dx.doi.org/10.5755/j01.ct.67.1.15826>

Gauta 2016 m. vasario 9 d.; priimta spaudai 2016 m. balandžio 5 d.

Ištirtas Mn^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} jonais inicijuojamas vandenilio peroksido skilimas modelinėse terpėse. Sukurta ekologiškai švaresnė efektyvi sistema, susidedanti iš vandenilio peroksido 2–4 % odų masės, fermentinio preparato *Aquaderm A* 0,2 % odų masės ir divalenčių mangano ar geležies druskų priedų 28–56 $\mu\text{mol/L}$. Įvertinta plikių kokybė – epidermis suardytas visiškai, plaukai atpalaiduoti, gerai ir nesunkiai pašalinami mechaniškai, menki nesuirusio povilnio likučiai. Plikinant odas siūloma sistema, tikėtina, sumažės vandens sąnaudos ir nuotekų užterštumas cheminėmis medžiagomis.

Reikšminiai žodžiai: oda, plikinimas, fermentas, vandenilio peroksidas.

Įvadas

Tradiciniai odų išdirbimo procesai atliekami naudojant aplinką teršiančias, kenksmingas chemines medžiagas – rūgštis, šarmus ir įvairias druskas. Tai vieni iš pagrindinių odų išdirbimo paruošiamųjų procesų (atmirkymo, plikinimo, dermos purenimo ir minkštinimo) nuotekų teršalai.

Remiantis Europos Sąjungos direktyva 91/65/EC **IPPC**, rengiamuose ir kas treji metai atnaujinamuose informaciniuose dokumentuose (**BREF**), susijusiuose su geriausių technologijų (**BAT**) taikymu odų išdirbimo pramonėje, nurodoma, kad, vykstant paruošiamiesiems odų išdirbimo procesams, būtina mažinti sulfidų (Na_2S , NaHS) ir kalkių naudojimą arba pakeisti jas mažiau aplinką teršiančiomis ir nekenksmingomis cheminėmis medžiagomis [1].

Kuriant švaresnes, mažiau aplinką teršiančias technologijas, ypatingas dėmesys skiriamas odų išdirbimo paruošiamuosiuose procesuose naudojamiems sulfidams ir kalkėms – būtina mažinti jų kiekius arba pakeisti jas kitomis odoms atmirkyti, plikinti, dermai purenti, minkštinti priimtinomis sistemomis. Manoma, kad tokių sistemų komponentai gali būti plačiu veikimo spektru pasižymintys fermentiniai preparatai, taip pat oksidaciniai agentai.

Fermentinių preparatų tinkamumą ir efektyvumą, jo panaudojimą odų išdirbimo procesuose lemia daugelis veiksnių, iš kurių svarbiausi yra aktyvumas, terpės *pH*, temperatūra, fermento ir substrato santykis, oksidacinis ir redukcinis terpės potencialas ir apdorojimo terpėje esantys jonai ar komponentai.

Šiuo metu nekenksmingiems fermentiniams preparatams gaminti pramoniniu mastu tinkami tik trys mikroorganizmų štamai: *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger* ir *Bacillus subtilis*. Fermentinio preparato tinkamumą lemia ne vien tik jo techninės charakteristikos, pvz., aktyvumas, kuris dažniausiai nustatomas atskirų substratų (kazeino, albumino ir kt.)

atžvilgiu, bet ir praktinis jo efektyvumo įvertinimas odų išdirbimo procese remiantis konkrečiais kriterijais.

Fermentinių preparatų naudojimas įvairiuose odų išdirbimo procesuose, pvz., odoms plikinti, yra daug pranašesnis palyginti su įprastu odų plikiniu suardant plaukus. Sutrumpėja proceso trukmė, atsiranda galimybė išsaugoti vertingą žaliavą – plaukus, svarbiausia, mažiau teršiamos odų išdirbimo pramonės nuotekos plaukų irimo produktais ir cheminėmis medžiagomis.

Odų atmirkymo, plikinimo, dermos purenimo, minkštinimo procesuose paprastai naudojami hidrolazių klasės fermentai. Pasirodžius naujiems, šarminėje terpėje stabiliems, fermentiniams preparatams rinkoje, prasiplėtė jų panaudojimo odų išdirbimo procesuose galimybės. Viena didžiausių odų plikinimo fermentais problemų – valkties pažeidimai. Jų susidaro atsiradus odų konservavimo defektams ir dėl nepakankamai ar nevienodai pašalinus atmirkytų odų kaisenas. Fermentai į odą skverbiasi iš poodžio pusės, o esant nepašalintų kaisenų procesas vyksta netolygiai. Tam, kad fermentai prasiskverbtų iki plaukų krepšelių ir plaukai būtų gerai atpalaiduoti, oda turi būti 20–24 h veikiamą didelės koncentracijos fermentų tirpalu. Vykstant procesui, susidaro palankios sąlygos bakteriologiniams procesams.

Fermentinių preparatų firma „Novo Nordisk“ (Danija) gamina šarminėje terpėje stabilias proteazes (NUE S Typ 1, NUE 12 MP, NUE 0,6 MPX, Pyrase 250 MP, Alcalase 2.5 L, Novo Bate WB) ir lipazes Greasex 50 L [2–4]. Pastaraisiais metais šioje firmoje pagamintas fermentinis preparatas, turintis gerų odas plikinančių savybių [5]. Nurodoma, kad naudojant šį preparatą plikinimo proceso metu visiškai ištirpsta epidermis ir nepažeidžiamas plikės išviršinis sluoksnis.

Po fermentinio plikinimo visada lieka, nors ir nedaug, plaukų (povilnio) ar epidermio. Šiems likučiams pašalinti reikia papildomai naudoti plaukus ardančias chemines medžiagas. Naudojant šarmines proteazes, odų plikinimą galima vykdyti kartu purenant dermą. Taikant daugumą aprašytų plikinimo šarminėje aplinkoje stabiliais fermentais būdų, kartu naudojamos kalkės ir

maži natrio sulfido kiekiai [6, 7], aminorai, tioglikolis, tiokarbamidas arba merkaptotetanolis [8–10]. Tokie plikavimo būdai literatūroje kartais vadinami cheminiais-fermentiniais [11–18].

Tirtas bakterinės (*Aspergillus flavus*) šarminės proteazės vartojimas raguočių odų cheminiam ir fermentiniam plikinimui [19]. Atlikti šikšnų fizikiniai ir mechaniniai tyrimai: atsparumas trūkimui, plėšimui rutuliuku ar smeige ir kt. Nustatyta, kad vartojant šį fermentinį preparatą odų išdirbimo procesuose gautų šikšnų fizikiniai ir mechaniniai rodikliai geresni palyginti su kontrolinių (pvz., tiriamųjų šikšnų atsparumas trūkimui – 214,26–228,17 kG/cm², o kontrolinių šikšnų atsparumas trūkimui – 204,06–218,09 kG/cm²).

Žinant, kaip keičiasi odos struktūra įvairių išdirbimo procesų metu, galima sėkmingai reguliuoti procesų vyksmą, nustatyti optimalius vartojamų cheminių medžiagų kiekius ir gauti kokybišką pusgaminį ar šikšną.

Išdirbant drabužines šikšnas iš avių, odoms plikinti naudojama α -amilazė, turinti specifinį poveikį odos audinio mikrostruktūrai ir sudėčiai. Po tokio odų plikinimo galimas plikių chrominimas be pikelio. Sumažėja cheminių medžiagų sąnaudos (1 tonai žaliavos vietoj 442 kg cheminių medžiagų sunaudojama 38 kg) ir nuotekose skendinčių dalelių kiekis, biocheminis deguonies sunaudojimas (BDS) sumažėja iki 84 % [20].

Literatūroje [21–23] supažindinama su odų plikinimo būdu naudojant fermentinį preparatą *Protoliheterm*, gautą iš štamo *Bacillus licheniformis* 103. Teigiama, kad šis fermentinis preparatas pasižymi unikaliomis savybėmis. Pateikti duomenys apie odos struktūrinius kitimus, vykstančius dermoje plikinimo proceso metu. Nustatyta, kad, naudojant fermentinį preparatą ir nejonogeninę PAM, padidėja fermentinio preparato aktyvumas ir stabilumas.

Pastaraisiais metais padidėjo susidomėjimas įvairių oksidacinių sistemų panaudojimo galimybėmis, atliekant odų plikinimo ir dermos purenimo procesus. Akcentuojamas jų pranašumas prieš tradicinius odų plikinimo ir dermos purenimo būdus panaudojant sulfidus ir kalkes.

Be abejo, tai susiję su gamtos saugos problemomis. Odų atmirkymo, plikinimo, dermos purenimo procesams sunaudojama apie pusė viso vandens kiekio, reikalingo odoms išdirbti. Šių procesų nuotekoms sunaudojama 70 % cheminio deguonies (COD), skendinčių dalelių (SS) – 80 %, bendrojo Kjeldalio azoto (TKN) – 50 %, o sulfidų – 100 %.

Atlikus oksidacinio odų plikinimo ir dermos purenimo tyrimus, [24–27] pateikiamos odų plikinimo ir

dermos purenimo metodikos naudojant vandenilio peroksidą ir šarmą, aminorai ir kt. priedus. Išdirbtų odų savybės analogiškos įprastiniu būdu išdirbtų odų savybėms, o ekologiniu požiūriu mažiau teršiama aplinka.

Sukurtos oksidacinės sistemos, kuriose vandenilio peroksidas pakeičiamas kitais oksidaciniais agentais: natrio peroksoboratu, natrio peroksokarbonatu, kalcio ar magnio peroksida, magnio peroksomonosulfatu [28–31]. Šiose sistemose, be oksidacinio agento ir natrio šarmo, siūlomi naudoti ir kiti priedai: kalio cianatas, karbamidas, aminorai, pagreitinantys odų oksidacinio plikinimo procesą, pagerinantys išdirbtų odų kokybę.

Pasiūlyta [32] odų oksidacinio plikinimo sistema: H₂O – 200 % odos masės (o. m.), NaOH – 0,2 % o. m., antrinio amino produkto *Ribersal PLE* – 1–2 % o. m., fermentinio preparato *Ribezzym MPX* – 0,1–0,3 % o. m., H₂O₂ – 3,8 % o. m. ir kt. pagalbinių priedų. Teigiama, kad išdirbtų odų fizikinės ir mechaninės savybės nesiskiria nuo tradiciniu būdu gautų savybių, tačiau gerokai sumažėja vandens sąnaudos ir taršiųjų nuotekų kiekis, pagerėja darbo sąlygos.

Apibendrinant reikia paminėti, kad, tik atliekant nedaugelį tyrimų, nagrinėjami dermos struktūriniai kitimai, vykstantys odų plikinimo proceso metu. Retai aprašomi ir gautų plikių savybių tyrimai.

Šio darbo tikslas – sukurti odoms plikinti tinkamą, efektyvią oksidacinę sistemą, kurios pagrindiniai komponentai yra oksidacinė medžiaga ir fermentinis preparatas.

Medžiagos ir tyrimų metodikos

Tyrimams naudotos sūdytu konservuotos galvijų odos. Vienos odos vidutinė masė – 15–25 kg. Tokios odos pasirinktos dėl to, kad Lietuvoje būtent tokio svorio odų perdirbama daugiausia. Eksperimentams naudoti iš kruponinės odos dalies išpjauti atmirkyti bandiniai, kurių matmenys 120 × 180 mm.

Bandiniai asimetriniu metodu buvo skirstomi į eksperimentines serijas. Bandinių apdorojimas atitinkamais tirpalais buvo vykdomas stikliniuose induose, įtvirtintuose specialioje įrangoje, imituojančioje gamybinių aparatų darbą.

Eksperimentams pasirinktas firmos „Novo Nordisk“ (Danija) fermentinis preparatas *Aquaderm A*.

Konservuotų odų bandinių paruošimo tyrimams atlikti metodika pateikta 1 lentelėje.

1 lentelė. Odos bandinių paruošimo tyrimui atlikti metodika

Proceso pavadinimas	Proceso parametrai		
	medžiagos pavadinimas ir kiekis, % odos masės (o. m.)	t, °C	trukmė
Atmirkymas	H ₂ O – 160; Na ₂ CO ₃ – 1,4	20 ± 1	8,5 h
Plovimas	H ₂ O – 200	20 ± 1	3–5 min
Oksidacinis fermentinis plikinimas	H ₂ O – 200; H ₂ O ₂ – 2,0; 4,0 Fermentinis preparatas – 0,2 Katalizatorius (Mn ²⁺ arba Fe ²⁺) – 28; 56 μmol/L	20 ± 1	4 h

Pastaba. Plikinimo tirpalo pH 9,0 ± 0,2 reguliuojamas NaHCO₃. Visų procesų režimas – maišoma nepertraukiamai.

Tirpalų *pH* vertė nustatyta pagal galiojantį standartą [33]. Vandenilio peroksido kiekis reakcijos mišinyje nustatytas taikant permanganometrinį metodą [34]. Odų plikimo kokybę įvertinta jusliniais metodais pagal sąlyginius balus: 0 balų – plaukai neatsipalaidavę; 1 balas – plaukų ryšys su derma susilpnėjęs nedaug; 2 balai – plaukų ryšys su derma susilpnėjęs daug, tačiau jie sunkiai pašalinami mechaniškai; 3 balai – plaukai lengvai pašalinami mechaniškai.

Rezultatai ir jų aptarimas

Oksidacinio fermentinio odų plikimo tyrimas.

Pastarųjų metų mokslinės literatūros analizė rodo, kad ši aplinkos požiūriu aktuali problema galėtų būti sprendžiama odoms plikinti ir dermai purenti naudojant oksidacines sistemas ir fermentinius preparatus. Priimtinausias oksidacinis agentas būtų vandenilio peroksidas, t. y. palyginti nebrangus, skaidus, saugus, didelį aktyvaus deguonies kiekį atpalaiduojantis reagentas. Iš rinkoje esančių fermentinių preparatų naudotinas plataus veikimo spektro preparatas, pasižymintis proteolitiniu, amilolitiniu, lipolitiniu veikimu.

Parengiamieji tyrimai. Vandenilio skilimo mechanizmas iki šiol yra diskusijų objektas, o duomenys apie skilimo priklausomybę nuo reakcijos terpės, sąlygų, pašalinių veiksnių yra dažnai prieštaringi. Todėl pradiniam darbo etape buvo tikslinga ištirti vandenilio peroksido skilimo vandeninėje terpėje vyksmą. Vandenilio skilimas priklauso nuo daugelio veiksnių: terpės *pH*, temperatūros, pašalinių priemaišų, druskų, skendinčių dalelių ir kt.

Žinoma, kad rūgštinė terpė vandenilio peroksidą veikia stabilizuojančiai. Kai *pH* yra 3,5–4,5, vandenilio peroksidas skyla labai lėtai, jo koncentracija didesnė nei 50 %. Šarminėje terpėje, kai *pH* > 7, jo skilimas pagreitinėja. Gryno (90 %) vandenilio peroksido skilimo greitis 50 °C temperatūroje, esant *pH* 6,67, lygus 0,075 % per valandą [35].

Taigi vandenilio peroksidas odų plikimo sistemose galėtų būti efektyvus tik esant stipriai šarminei ar rūgštinei terpėms.

Odų plikimo sistemose vandenilio peroksido skilimą būtų tikslinga inicijuoti kai kurių divalenčių ar trivalenčių druskų priedais. Žinoma, kad labai nedidelės Fe^{3+} , Cu^{2+} , Cr^{3+} , Mn^{2+} , Pb^{2+} metalų jonų koncentracijos (0,2–1,0 mg/L) efektyviai katalizuoja vandenilio peroksido skilimą [35]. Taigi odas plikinti būtų galima kuo palankesnėmis tiek technologiniu, tiek išdirbtų odų kokybės požiūriu bei odos struktūrą kuo mažiau pažeidžiančiomis sąlygomis.

Tikėtina, kad, panaudojus katalizatorius, odas plikinti vandenilio peroksido oksidacinėmis sistemomis būtų galima esant gana žemoms temperatūroms (20–25 °C) ir terpės *pH* neviršijant 10.

Vandenilio peroksido skilimo priklausomybė nuo terpės *pH* ir katalizatoriaus. Preliminariniai vandenilio peroksido skilimo priklausomybės nuo reakcijos terpės *pH* bandymai parodė, kad rūgštinėje terpėje (*pH* 3,60, su CH_3COOH , temperatūra 20 °C, trukmė 5 h) vandenilio

peroksidas neskyla. Nei temperatūros padidėjimas iki 40 °C, nei *pH* sumažinimas iki 3,0 vandenilio peroksido skilimui įtakos neturi. Ir tik esant Cu^{2+} katalizatoriui, po 6 parų reakcijos mišinyje vandenilio peroksido koncentracija sumažėja 10 %. Taigi sunku tikėti, kad technologiniu požiūriu priimtinoje rūgštinėje terpėje, kai *pH* 3,60, vandenilio peroksidas būtų efektyvus.

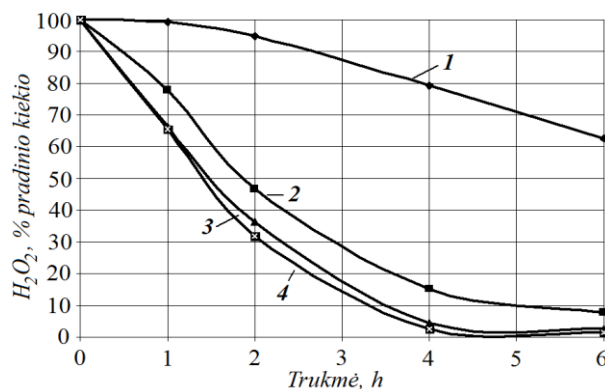
Tiriant vandenilio peroksido skilimą šarminėje terpėje, nustatytas įdomus faktas apie NaHCO_3 įtaką jo skilimui. Nustatyta, kad šarminėje terpėje (*pH* 9,0, NaHCO_3 , temperatūra 20 °C, trukmė 3 h) vandenilio peroksido koncentracija sumažėja 60 %, o šarminėje terpėje su NaOH (*pH* 11,3, NaOH , temperatūra 20 °C, trukmė 3 h) vandenilio peroksido koncentracija sumažėja tik 40 %.

Išsamesniems vandenilio peroksido skilimo tyrimams atlikti parinkti tokie eksperimento parametrai: terpės *pH* reguliuojama NaHCO_3 – $9,0 \pm 0,2$, temperatūra – 20 ± 1 °C, trukmė – 0–6 h, katalizatoriai – divalenčių metalų Mn^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} druskos.

Vandenilio peroksido skilimo priklausomybė nuo trukmės naudojant katalizatorius. Ištirta vandenilio peroksido skilimo vandeninėje terpėje priklausomybė nuo reakcijos trukmės, kai naudojami divalenčių Mn^{2+} , Cu^{2+} ir Fe^{2+} druskų katalizatoriai.

Divalenčio Mn^{2+} druskos koncentracija buvo keičiama nuo 14 $\mu\text{mol/L}$ iki 56 $\mu\text{mol/L}$ (Mn^{2+} jonų koncentracija tirpale nuo 0,77 mg/L iki 3,1 mg/L). Vandenilio peroksido koncentracija – 0,324 mol/L, temperatūra 20 ± 1 °C, trukmė 1–6 h. Terpės *pH* vertė reguliuojama NaHCO_3 ir lygi $9,0 \pm 0,2$. Gauti duomenys parodyti 1 paveiksle.

Iš 1 paveiksle nubraižytų kreivių matyti, kad nesant katalizatoriaus vandenilio peroksidas skyla lėtai – per 6 h suskilo apie 37 % pradinės koncentracijos (1 kreivė).

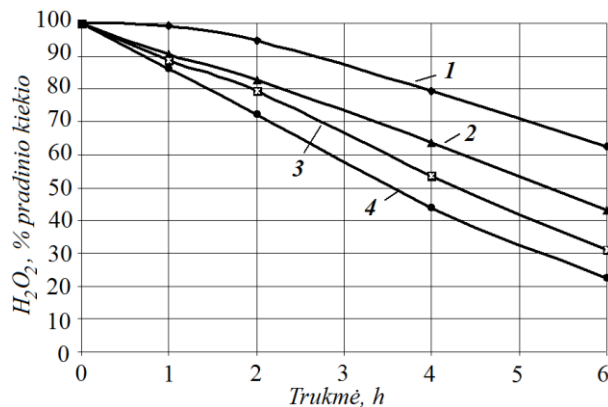


1 pav. Vandenilio peroksido skilimo vandeninėje terpėje priklausomybė nuo trukmės, kai naudojamo katalizatoriaus Mn^{2+} jonų koncentracija: 1 – be katalizatoriaus; 2 – 14 $\mu\text{mol/L}$; 3 – 28 $\mu\text{mol/L}$; 4 – 56 $\mu\text{mol/L}$. Terpės *pH* $9,0 \pm 0,2$; temperatūra 20 ± 1 °C

Esant reakcijos mišinyje Mn^{2+} jonų vandenilio peroksidas skyla labai intensyviai. Kai Mn^{2+} jonų koncentracija mišinyje lygi 14 $\mu\text{mol/L}$, daugiau nei 50 % vandenilio peroksido suskyla jau po 2 h, o po 6 h (2 kreivė) suskilusio peroksido kiekis siekia 90 % pradinės koncentracijos.

Esant didesnėms Mn^{2+} jonų koncentracijoms reakcijos mišinyje (28 $\mu\text{mol/L}$ ir 56 $\mu\text{mol/L}$), vandenilio peroksido skilimo procesas vyksta dar intensyviau ir po 6 h praktiškai suskyla visas vandenilio peroksidas (1 pav., 3 ir 4 kreivės).

2 pav. parodyta vandenilio peroksido skilimo priklausomybė nuo trukmės, kai naudojamas katalizatorius yra Cu^{2+} druska. Cu^{2+} jonų koncentracija mišinyje buvo 14, 28 $\mu\text{mol/L}$ ir 56 $\mu\text{mol/L}$. Tai atitinka Cu^{2+} jonų koncentraciją: 0,9 mg/L, 1,8 mg/L ir 3,6 mg/L.



Analizuojant 2 paveiksle parodytus tyrimo rezultatus, galima teigti, kad Cu^{2+} jonai taip pat katalizuoja vandenilio peroksido skilimą, tačiau ne taip efektyviai kaip Mn^{2+} jonai.

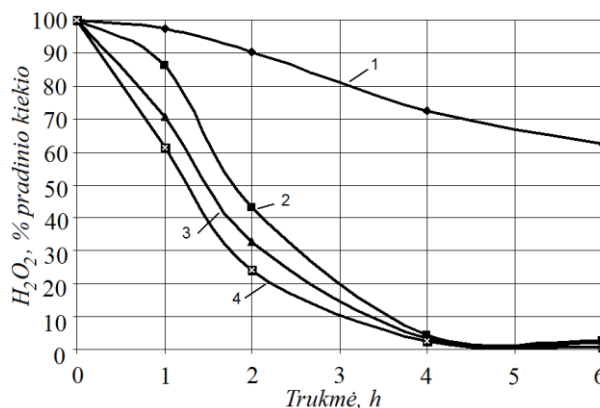
Kai Cu^{2+} jonų koncentracija mišinyje lygi 14 $\mu\text{mol/L}$, per 2 h suskilusio peroksido kiekis nesiekia 30 % (2 pav., 2 kreivė). Padidinus Cu^{2+} jonų koncentraciją 2 ar 3 kartus, t. y. iki 28 $\mu\text{mol/L}$ ir 56 $\mu\text{mol/L}$, suskilusio peroksido kiekis padidėja nedaug – iki 21 % ir 28 % pradinio kiekio (2 pav., 3 ir 4 kreivės). Po 6 h reakcijos trukmės, esant nurodytoms Cu^{2+} jonų koncentracijoms, suskilusio peroksido kiekis lygus 69 % ir 78 % pradinio kiekio (2 pav., 3 ir 4 kreivės).

Trečiasis pasirinktas katalizatorius buvo divalentės geležies druskos jonai. Jos koncentracija reakcijos mišinyje taip pat buvo lygi 14 $\mu\text{mol/L}$, 28 $\mu\text{mol/L}$ ir 56 $\mu\text{mol/L}$. Tai atitinka Fe^{2+} jonų koncentraciją: 0,8 mg/L, 1,6 mg/L ir 3,1 mg/L. Gauti tyrimų rezultatai parodyti 3 paveiksle.

Galima teigti, kad Fe^{2+} jonai labai efektyviai katalizuoja vandenilio peroksido skilimą šarminėje terpėje, kurios pH vertė 9,0 $\pm$ 0,2. Suskilusio peroksido kiekis, padidinus Fe^{2+} jonų koncentraciją nuo 14 iki 56 $\mu\text{mol/L}$, atitinkamai sudarė 57 % ir 76 % pradinio kiekio (3 pav., 2 ir 4 kreivės).

Apibendrinant rezultatus galima teigti, kad vandenilio skilimo silpnai šarminėje terpėje (pH 9,0 $\pm$ 0,2) greitis gali būti reguliuojamas labai mažais divalentių metalų druskų priedais (14–56 $\mu\text{mol/L}$). Mangano ir geležies jonų katalitinis veikimas yra panašus, vario – šiek tiek mažesnis. Pagal katalitinį

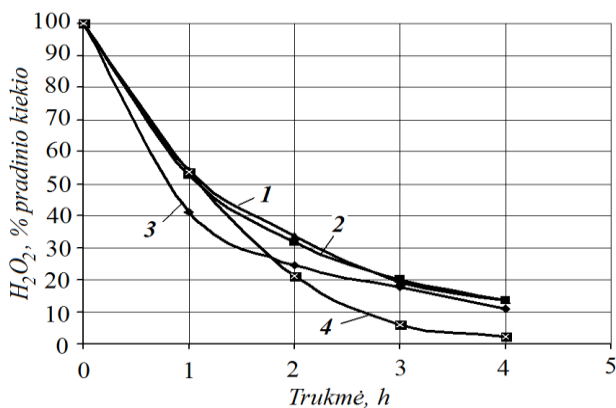
aktyvumą jonus galima išdėstyti tokia seka: Mn^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} . Labai svarbu pabrėžti, kad, naudojant šių druskų priedus, oksidacinius procesus galima vykdyti žemoje temperatūroje (20–25 $^{\circ}\text{C}$).



3 pav. Vandenilio peroksido skilimo vandeninėje terpėje priklausomybė nuo trukmės, kai naudojamo katalizatoriaus Fe^{2+} jonų koncentracija: 1 – be katalizatoriaus; 2 – 14 $\mu\text{mol/L}$; 3 – 28 $\mu\text{mol/L}$; 4 – 56 $\mu\text{mol/L}$. Terpės pH 9,0 $\pm$ 0,2; temperatūra 20 $\pm$ 1 $^{\circ}\text{C}$.

Oksidacinio fermentinio odų plikimo tyrimas.

Vertinant oksidacinio agento poveikį, svarbu žinoti jo kitimus sistemoje, kurioje yra odos bandiniai. Todėl buvo atlikti vandenilio peroksido koncentracijos kitimo odų plikimo tirpaluose tyrimai. Gauti rezultatai parodyti 4 paveiksle.



4 pav. Vandenilio peroksido skilimo odų plikimo terpėje priklausomybė nuo trukmės, kai naudojami komponentai ir jų kiekiai: 1 – H_2O_2 2 % o. m., Mn^{2+} 28 $\mu\text{mol/L}$; 2 – H_2O_2 4 % o. m., Mn^{2+} 28 $\mu\text{mol/L}$; 3 – H_2O_2 2 % o. m., Mn^{2+} 56 $\mu\text{mol/L}$; 4 – H_2O_2 4 % o. m., Fe^{2+} 56 $\mu\text{mol/L}$. Terpės pH 9,0 $\pm$ 0,2; temperatūra – 20 $\pm$ 1 $^{\circ}\text{C}$.

4 paveiksle pavaizduotų kreivių pobūdis rodo, kad vandenilio peroksido kiekio mažėjimo tendencija visų tiriamųjų sistemų atveju yra panaši. Per dvi valandas vandenilio peroksido kiekis visais atvejais sumažėjo 70–80 % pradinio kiekio, o po 4 h – apie 90 %. Šiek tiek išsiskiria Fe^{2+} jonų katalitinis poveikis antrojoje proceso stadijoje, t. y. po 3–4 h (4 pav., 4 kreivė). Po 4 h reakcijos mišinyje suskilusio peroksido kiekis sudaro 97 % pradinio kiekio.

Lyginant šiuos tyrimo rezultatus su vandenilio peroksido skilimo modelinėse terpėse duomenimis (1 ir 3 pav.), atsekti kokį nors išskirtinį vandenilio peroksido kitimo pobūdį sudėtinga. Galbūt verta konstatuoti suaktyvėjusį vandenilio peroksido skilimą proceso pradžioje, kuriam poveikį galėjo turėti reakcijos mišinys esančios odos. Modelinėse terpėse (1 ir 3 pav.) su divalentių Mn^{2+} ir Fe^{2+} druskų priedais suskilusio vandenilio peroksido kiekis po 1 h sudaro apie 20–40 %, esant apdorojamoms odoms (4 pav.) jis siekia 50–60 %

pradinio kiekio. Po 2 h suskilusio peroksido kiekis atitinkamai lygus 45–70 % ir 70–80 % pradinio kiekio. Fermentinio preparato *Aquaderm A* priedo įtaka vandenilio peroksido skilimui nepastebėta, tačiau neabejotina, kad esant kitokioms sąlygoms ji gali pasireikšti.

Oksidacinio fermentinio odų plikimo proceso parametrai ir tyrimo rezultatų įvertinimas pateikti 2 lentelėje.

2 lentelė. Oksidacinio fermentinio odų plikimo parametrai ir plaukų atpalaidavimo įvertinimas

Eksp. nr.	H ₂ O ₂ , %	C _(kat) , μmol/L	Aquaderm A, % o. m.	t, °C	Odų plikimo vertinimas (balai)
1	2	Mn ²⁺ 28	–	20 ± 1	Nepakankamas. Plaukai neatsipalaidavę (1).
2	4	Mn ²⁺ 28	–	20 ± 1	Patenkinamas. Plaukų ryšys su derma susilpnėjęs nedaug (2).
3	4	Mn ²⁺ 28	0,2	20 ± 1	Labai geras. Plaukai lengvai pašalinami mechaniškai, plaukų likučių nedaug, valktis nepažeista (3).
4	2	Mn ²⁺ 56	0,2	20 ± 1	Labai geras. Plaukai lengvai pašalinami mechaniškai, plaukų likučių nedaug, valktis nepažeista (3).
5	4	Fe ²⁺ 56	–	20 ± 1	Patenkinamas. Plaukų ryšys su derma susilpnėjęs nedaug (2).
6	4	Fe ²⁺ 56	0,2	20 ± 1	Labai geras. Plaukai lengvai pašalinami mechaniškai, plaukų likučių nedaug, valktis nepažeista (3).

Pastaba. Vanduo – 200 % o. m., plikimo tirpalo pH 9,0 ± 0,2, trukmė – 4 h. Režimas – maišoma nepertraukiamai.

Gautieji tyrimų rezultatai rodo, kad odoms plikinti sėkmingai gali būti naudojamos oksidacinės fermentinės sistemos, susidedančios iš vandenilio peroksido 2–4 % o. m., plataus veikimo spektro proteolitinio fermentinio preparato *Aquaderm A* 0,2 % o. m. ir vandenilio skilimą inicijuojančių Mn^{2+} ir Fe^{2+} druskų priedų ($C_{(Mn^{2+}, Fe^{2+})}$ – 28–56 μmol/L), kurių koncentracija plikimo tirpale tesiekia 15–30 mg/L.

Plaukai išlieka nepažeisti, lengvai pašalinami mechaniškai, odų bandiniai balti, valktis nepažeista. Apžiūrint plikintus bandinius, kai kuriose vietose plaukų maišeliuose pastebimi nesuirusių jaunų plaukų likučiai. Ši problema gali būti išspręsta kituose povilnio šalinimo ir dermos purenimo procesuose. Gautieji teigiami odų plikimo oksidacinėmis fermentinėmis sistemomis rezultatai skatina tęsti pradėtus rezultatus.

Išvados

1. Ištirtas divalentių metalų (Mn^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+}) druskų inicijuojamas vandenilio peroksido skilimas modelinėse terpėse (terpės pH 9,0 ± 0,2). Nustatyta, kad keičiant šių druskų koncentraciją nuo 14 iki 56 μmol/L vandenilio peroksido skilimo greitis 20 ± 1 °C temperatūroje gali būti reguliuojamas pasirinktame intervale. Pagal efektyvumą divalentių metalų jonų seka būtų tokia: Mn^{2+} , Fe^{2+} ir Cu^{2+} .
2. Sukurta oksidacinė fermentinė atmirkytų odų plikimo sistema, susidedanti iš vandenilio peroksido (2,0–4,0 % odų masės), fermentinio preparato *Aquaderm A* (0,2 % o. m.) ir katalizatoriaus

($C_{(Mn^{2+}, Fe^{2+})}$ – 28–56 μmol/L). Odų plikimo terpės pH 9,0 ± 0,2, temperatūra 20 ± 1 °C, trukmė – 4 h. Įvertinta plikių kokybė – epidermis suardytas visiškai, plaukai atpalaiduoti pakankamai ir nesunkiai pašalinami mechaniškai, valktis švari, nepažeista, menki nesuirusio povilnio likučiai.

Literatūra

1. Integrated Pollution Prevention and Control (IPPC) reference document on best available techniques for the tanning of hides and skins. February 2003.
2. **Sirvaityte J., Valeika V., Beleska K., Valeikiene V.** Bating of pelts after deliming with peracetic acid // Proceedings of the Estonian Academy of Sciences, Chemistry. 2006. Vol. 55. N 2. P. 93–100.
3. **Yates J.** Etudes sur l'epilage le mecanisme du processus d'epilage aux enzymes // Revue Technique des Industrie du Cuir. 1974. Vol. 66. N 4. P. 130–136.
4. **Oertel H.** Untersuchungen zur Verbesserung der Farbechtheit von Leder mittels proteolytischer Enzyme // Das Leder. 1994. N 6. P. 126–130.
5. **Andersen L.** Neue Entwicklungen zur enzymatischen Enthaarung // Das Leder. 1995. N 7. P. 183–184.
6. **Simoncini A.** Biotechnology in the tanning industry // Journal of the American Leather Chemists Association. 1987. Vol. 82. N 8. P. 226–241.
7. **Fennen J., Herta D., Pelckmans J. T., Christner J.** Reliable and environmentally friendly enzymatic unhairing with low amounts of sulphide // Sustainability strategy of leather industry: proceedings of the 10th Asian international conference on leather science and technology workshop on environmental technologies, Okayama, Japan. 2014. P. 1–8.

8. **Orlita A., Navratil V., Urbanova E., Nemecek P., Peterka J.** Czechoslovakia Pat. 204306, 1983.
9. **Petraglia F.** Mollescal: an alternative to eliminating or reducing sulfide in beamhouse effluent // *Journal of the American Leather Chemists Association*. 1981. Vol. 76. N 9. P. 19–23.
10. **Monsheimer R., Pfeleiderer E.** Germany Pat. 2917376, 1980.
11. **Thanikaivelan P., Rao J.R., Nair, B U., Ramasami T.** Approach towards zero-discharge tanning: Exploration of NaOH based opening up method // *Journal of the American Leather Chemists Association*. 2001. Vol. 96. N 6. P. 222–233.
12. **Valeika V., Balciuniene J., Beleska K., Valeikiene V.** Lime-free unhairing: Part 3. Influence of unhairing method on chemical, physical and mechanical properties of pelt and leather // *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*. 2000. Vol. 84. N 4. P. 165–169.
13. **Kazlauskaitė E., Balciuniene J., Zaliauskiene A., Beleska, K., Valeika, V., Valeikiene V.** Influence of unhairing method on dermatan sulphate and microscopical investigation of pelt and leather // *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*. 2002. Vol. 86. N 2. P. 59–64.
14. **Valeika V., Beleska, K., Valeikiene V., Kolodzeiskis V.** An approach to cleaner production: from hair burning to hair saving using a lime-free unhairing system // *Journal of Cleaner Production*. 2009. Vol. 17. N 2. P. 214–221.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2008.04.010>
15. **Munz K.H., Sonnleitner R.** Application of soluble silicates in leather production // *Journal of the American Leather Chemists Association*. 2005. Vol. 100. N 2. P. 66–75.
16. **Saravanabhavan S., Thanikaivelan P., Rao J.R., Nair B.U.** Silicate enhanced enzymatic dehairing: A new lime-sulfide-free process for cowhides // *Environment Science & Technology*. 2005. Vol. 39. N 10. P. 3776–3783.
<http://dx.doi.org/10.1021/es048770o>
17. **Liu Y. S., Yi C., Fan H. J., Hu Z., Luo Z.Y., Bi S.** Environment-friendly lime-free liming // *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*. 2009. Vol. 93. N 2. P. 56–60.
18. **Schlösser L., Heidemann E.** Proteolyse von Haut in Enthaarungskulturansätzen von *Lactobacillus plantarum* // *Das Leder*. 1986. N 3. P. 33–45.
19. **Malathi S., Chakraborty R., Parthasarathi K., Ramanaiah B., Gupta K. B., Mitra R. B.** Cost-effective method for the production of depilation: A cost-effective method for the production of alkaline protease by an *Aspergillus flavus* isolate and its application for the depilation of goat skins // *Journal of the American Leather Chemists Association*. 1991. Vol. 86. N 2. P. 33–41.
20. **Aravindhnan R., Saravanabhavan S., Raghava Rao J., Balachandran Unni Nair, P., Thanikaivelan, B., Chandrasekaran.** A bio-driven lime and pickle free tanning paves way for greener garment leather production // *Journal of the American Leather Chemists Association*. 2004. Vol. 99. N 2. P. 53–66.
21. **Кочетова С., Макогон И., Калинин М., Студеникин С.** Эффективность использования НПАВ и ферментных препаратов в отмошно-зольных процессах // *Кожевенно – обувная промышленность*. 2005. № 3. С. 34–36.
22. **Чурсин В., Шапкарина Н.** Влияние ферментативной обработки на свойства голя и полуфабриката // *Кожевенно – обувная промышленность*. 2005. № 5. С. 35–36.
23. **Чурсин В.И.** Новые химические материалы в экологически безопасных технологиях кожевенного производства // *Кожевенно – обувная промышленность*. 2003. № 5. С. 10–11.
24. **Morera J., Bartoli E., Borrás M., Munoz D., Jimenez F., Marshal A.** Liming process using hydrogen peroxide // *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*. 1997. Vol. 81. N 2. P. 70–73.
25. **Marshal A., Morera J. M., Bartoli E., Borrás M. D.** Study on an unhairing process with hydrogen peroxide and amines // *Journal of the American Leather Chemists Association*. 2000. Vol. 95. N 1. P. 1–10.
26. **Morera J. M., Bartoli E., Borrás Ma. D., Gongora S., Marshal A.** Influence of the unhairing process on the mechanical characteristics of leather // *Journal of the American Leather Chemists Association*. 2000. Vol. 95. N 8. P. 293–300.
27. **Marmer W. N., Dudley R.** The use of oxidative chemicals for the removal of hair from cattle hides in the beamhouse // *Journal of the American Leather Chemists Association*. 2004. Vol. 99. N 9. P. 386–392.
28. **Andrioli E., Petry L., Gutterres M.** Environmentally friendly hide unhairing: Enzymatic-oxidative unhairing as an alternative to use of lime and sodium sulfide // *Process Safety and Environmental Protection*. 2015. Vol. 93. P. 9–17.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.psep.2014.06.001>
29. **Marmer W., Dudley R.** Oxidative unhairing by sodium percarbonate // *Journal of the American Leather Chemists Association*. 2005. Vol. 100. N 11. P. 427–431.
30. **Gehring A. G., Bailey D. G., DiMaio G. L., Dudley R. L., Marmer W. N., Mazenko C. E.** Rapid oxidative unhairing with alkaline calcium peroxide // *Journal of the American Leather Chemists Association*. 2003. Vol. 98. N 6. P. 216–223.
31. **Gehring A. G., Dudley R. L., Mazenko C. E., Marmer W. N.** Rapid oxidative dehairing with magnesium peroxide and potassium peroxymonosulfate // *Journal of the American Leather Chemists Association*. 2006. Vol. 101. N 9. P. 324–329.
32. **Morera J., Bartoli E., Borrás M., Banaszak S.** Oxidative unhairing of leather: Influence of several process parameters and environmental improvements // *Journal of the American Leather Chemists Association*. 2006. Vol. 101. N 10. P. 347–354.
33. LST EN ISO 4045:2001. Oda. pH nustatymas.
34. **Шемякин Ф., Карпов А., Брусенцов А.** Аналитическая химия. Москва, 1965.
35. **Шамб У., Сеттерфилд Ч., Вентворс Р.** Перекись водорода. Москва, 1958.

K. Beleşka, J. Širvaitytė, R. Alaburdaitė, I. Komičiūtė,
V. Valeika

INVESTIGATION OF THE USE OF ENZYME PREPARATIONS IN LEATHER MANUFACTURE

Summary

An important component in tanning is the removal of hair from the hide (unhairing), a process which generates considerable amounts of toxic effluent characterized by a high concentration of sulphur, rich mineral compounds, a high alkalinity, and a high organic load. Herewith, the cleaning of unhairing solutions, polluted with lime, sulphides and products of protein degradation remains, is very complicate and expensive. Special attention is paid to lime and sulphides, which are used for beamhouse processes, trying to decrease their amounts or replace them by systems of other materials. Developing new and less polluting technologies of leather processing, it is supposed that components of more environmentally friendly unhairing systems may be enzymatic preparations characterized by a wide spectrum of effects, and, also, oxidizing materials.

The presented research is aimed to develop an efficient unhairing system for hides, which contains the oxidation

material and the enzyme. Hydrogen peroxide was chosen as a comparatively cheap and environmentally friendly material.

Since the action of hydrogen peroxide in the unhairing system depends on its decomposition duration, the decomposition of hydrogen peroxide has been investigated with a modelling medium in the presence of metal ions (Mn^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+}). The addition of 28–56 $\mu\text{mol/L}$ of Mn^{2+} or Fe^{2+} leads to a complete decomposition of hydrogen peroxide during 5–6 hours.

The investigation of the unhairing process has shown that the separate use of hydrogen peroxide or the enzyme preparation does not lead to a qualitative unhairing of the hide. An environment-friendly and effective unhairing system has been prepared using hydrogen peroxide 2–4 % on hide mass, the enzyme preparation *Aquaderm A* 0.2 % on hide mass, and divalent manganese or iron salt in the range of concentration from 28 to 56 $\mu\text{mol/L}$. A good unhairing effect has been achieved in the following case: a full degradation of the epidermis; an easy hair removal by a slight mechanical action; no damage of the hide surface. The use of the developed unhairing system allows avoiding wastewater pollution by dangerous sulphides and lime.

Key words: hide, unhairing, enzyme, hydrogen peroxide