



**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS  
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

**Skaistė Mikulytė**

**NAUJŲ FERMENTINIŲ PREPARATŲ PANAUDOJIMAS  
ODOMS MINKŠTINTI**

Baigiamasis magistro projektas

**Vadovas**

dr. Virgilijus Valeika

**KAUNAS, 2018**

**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS**  
**CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

**NAUJŲ FERMENTINIŲ PREPARATŲ PANAUDOJIMAS**  
**ODOMS MINKŠTINTI**

Baigiamasis magistro projektas  
Pramoninė biotechnologija (621J70004)

**Vadovas**

dr. Virgilijus Valeika

**Recenzentas**

dr. Kęstutis Beležka

**Projektą atliko**

Skaistė Mikulytė

**KAUNAS, 2018**



**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS**

Cheminės technologijos fakultetas

(Fakultetas)

Skaistė Mikulytė

(Studento vardas, pavardė)

Pramoninė biotechnologija, 621J70004

(Studijų programos pavadinimas, kodas)

„Naujų fermentinių preparatų panaudojimas odoms minkštinti“  
**AKADEMINIO SAŽININGUMO DEKLARACIJA**

20 18 m. 06 04 d.  
Kaunas

Patvirtinu, kad mano, **Skaistės Mikulytės**, baigiamasis projektas tema „Naujų fermentinių preparatų panaudojimas odoms minkštinti“ yra parašytas visiškai savarankiškai ir visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų 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)

## TURINYS

<b>SANTRAUKA .....</b>	<b>5</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>6</b>
<b>SANTRUMPOS.....</b>	<b>7</b>
<b>IŽANGA .....</b>	<b>9</b>
<b>1. LITERATŪROS APŽVALGA .....</b>	<b>11</b>
1.1 Odos sandara ir sudėtis.....	11
1.1.1 Kolagenas. Rūšys ir savybės .....	14
1.2 Proteazės ir jų panaudojimas pramonėje .....	17
1.2.1 Fermentų taikymas išdirbant odas .....	20
1.2.2 Fermentinis plikinimas .....	23
1.2.3 Minkštinimo tikslai ir būdai .....	24
1.2.4 Fermentų naudojimas kituose išdirbimo procesuose.....	26
<b>2. MEDŽIAGOS IR TYRIMŲ METODAI .....</b>	<b>27</b>
2.1 Darbo objektas, naudotos medžiagos ir apdorojimo metodikos.....	27
2.2 Fermentų aktyvumo nustatymas Ansono metodu.....	30
2.3 Kolageninių baltymų analizė .....	32
2.4 Suvirimo temperatūros iki 100 °C nustatymas .....	32
2.5 Suvirimo temperatūros virš 100 °C nustatymas.....	33
2.6 Odos akytumo nustatymas.....	33
2.7 Cr (III) oksido kiekio tirpale nustatymas .....	34
2.8 Cr (III) oksido kiekio odoje nustatymas.....	34
2.9 Išdirbtos odos kokybiniai rodikliai .....	35
2.9.1 Drėgnio nustatymas .....	35
2.9.2 Dichlormetane tirpių medžiagų kiekio nustatymas .....	36
2.9.3 Fizikinių odos savybių nustatymas.....	36
2.10 Infraraudonoji spektroskopija.....	37
2.11 Statistinė analizė .....	37

<b>3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS .....</b>	<b>38</b>
3.1 Fermentinių preparatų aktyvumas.....	38
3.2 Fermentinių preparatų poveikis odai minkštinant .....	39
3.3 Minkštinimo įtaka pikeliavimui ir pikeliuotos plikės savybėms .....	43
3.4 Chrominimo ir chrominto pusgaminio analizė.....	45
3.5 Riebinto chrominto pusgaminio analizė.....	47
3.6 Odos bandinių infraraudonoji spektroskopinė analizė.....	49
3.7 Gamybiniai bandymai .....	51
<b>4. REKOMENDACIJOS.....</b>	<b>54</b>
<b>IŠVADOS.....</b>	<b>55</b>
<b>LITERATŪROS SĄRAŠAS .....</b>	<b>56</b>
<b>PADĖKOS .....</b>	<b>60</b>
<b>PRIEDAI .....</b>	<b>61</b>
1 priedas .....	61

Mikulytė, Skaistė. Naujų fermentinių preparatų panaudojimas odoms minkštinti. *Magistro baigiamasis projektas / vadovas dr. Virgilijus Valeika; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.*

Mokslo kryptis ir sritis: technologijų mokslai, biotechnologijos.

Reikšminiai žodžiai: *minkštinimas, proteolitiniai fermentai, pikeliavimas, chrominimas.*

Kaunas, 2018. 63 p.

## SANTRAUKA

Biotechnologijų taikymas odų išdirbimo įmonėse paskutiniaisiais metais žymiai išsiplėtė. Fermentai gali būti naudojami įvairiuose odos apdirbimo etapuose: atmirkymo, plikimo, minkstinimo, dažymo, riebinimo ar netgi po procesų liekančių atliekų bei nuotekų apdorojimo

Pastaruoju metu, odų minkštinimui visada naudojami fermentai ir jokia kita medžiaga jų pakeisti negali. Nuo kokybiško odos minkstinimo priklauso sekančių procesų eiga ir galutinio produkto kokybė, todėl svarbu kuo daugiau žinoti apie šį procesą ir jam naudojamus fermentinius preparatus. Lietuvoje veikianti UAB „Baltijos Enzimai“ patiekė į rinką įvairių fermentinių preparatų, siūlomų naudoti maisto pramonėje (fermentacijos procesams), tarp jų ir pasižyminčių proteolitinio veikimu. Yra naudinga iširti galimybes šiuos preparatus pritaikyti odos išdirbimo procesams ir praplėsti tinkamų odos pramonei fermentinių preparatų asortimentą.

Darbo metu atlikti tyrimai siekiant nustatyti tiriamojo fermentinio preparato Vilzim Pro Alk poveikį odai. Nustatyta fermentinio preparato įtaka tokioms išdirbamos odos savybėms kaip suvirimo temperatūra, pašalinamų minkstinimo ir pikeliavimo procesuose kolageninių baltymų kiekis, purumas, chromo junginių kiekis odoje, bei jų sunaudojimas, dichlormetanu ekstraguojamų medžiagų kiekis po įriebinimo ir įriebintos odos mechaninės savybės. Odos struktūriniai kitimai analizuoti IR spektroskopijos metodu. Remiantis gautais laboratorinių tyrimų rezultatais nustatytos optimalios sąlygos minkštinti fermentiniu preparatu Vilzim Pro Alk. Šie rezultatai patikrinti gamybinėse sąlygose išdirbant įriebintą pusgaminį (krastą). Nustatyta, kad plikei minkštinti panaudojus 0,0025 % plikės masės fermentinio preparato Vilzim Pro Alk, po tolesnių išdirbimo procesų gautasis pusgaminis (krastas) savo savybėmis visiškai atitiko tokiems pusgaminiams keliamus reikalavimus. Darbo rezultatai įrodo, kad fermentinis preparatas Vilzim Pro Alk tinka naudoti minkštinimo procese išdirbant galvijų odas.

Mikulytė Skaistė. *Application of New Enzyme Preparations for Bating of Hides* / Master's thesis in industrial biotechnology / supervisor dr. Virgilijus Valeika. The Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Research area and field: technology science, biotechnology.

Key words: *hide, leather, bating, enzymes, pickling, chroming.*

Kaunas, 2018. 63 p.

## SUMMARY

The application of biotechnologies by tanneries has increased in recent years. Enzymes can be applied for different steps of the leather production process: soaking, unhairing, bating, dyeing, degreasing or in effluent and solid waste treatment.

Currently, the enzymes have become irreplaceable for bating of hide/skin. Bating determines the following processes and the final quality of product. It is very important to know as much as we can about the process itself and the enzyme preparations used. UAB „Baltijos Enzimai“ recently released some new enzyme preparations. Few of the enzyme preparations have proteolytic activity. It is very useful to investigate the possible adaptability of these enzyme preparations in leather industry to expand the assortment of enzyme preparations suitable for leather processing.

During this project, the studies of enzyme preparation Vilzim Pro Alk action were carried out. The effect of the enzyme preparation on shrinkage temperature of hide, collagen proteins removed from hide during bating and pickling processes, porosity, amount of chromium compounds, matter soluble in dichloromethane and mechanical properties of fatliquored leather was determined. Structural changes of leather were assessed by IR spectroscopy.

Based on the results of this study the optimal conditions were determined for the use of enzyme preparation Vilzim Pro Alk in hide bating process. Laboratory results had been tested under industrial conditions when fatliquored leather (crust) was produced. The bating of pelt was carried out adding 0.0025 % (based on pelt mass) of enzyme preparation Vilzim Pro Alk. The product (crust) obtained after subsequent leather manufactory processes absolutely met requirements for this type of leather. Results of this study show that enzyme preparation Vilzim Pro Alk can be used successfully for bating of hides.

## SANTRUMPOS

FP – fermentinis preparatas

o.m. – odos masė.

ž.m. – žaliavos masė.

p.m. – plikės masė.

IR – infraraudonoji spektroskopija



## IŽANGA

Jei šviežia oda laikoma drėgna, ji pradeda pūti, o jei išdžiovinama, tampa kieta ir lengvai lūžta. Odos išdirbimo tikslas yra stabilizuoti jos struktūrą taip, kad ji išlaikytų natūralias savybes ir apsaugoti nuo puvimo.

Biotechnologijų taikymas odų išdirbimo įmonėse paskutiniaisiais metais žymiai išsiplėtė. Fermentai gali būti naudojami įvairiuose odos apdirbimo etapuose: atmirkymo, plikavimo, minkštinimo, dažymo, riebinimo ar netgi po procesų liekančių atliekų bei nuotekų apdorojimo [1].

Susidomėjimas fermentais, ypač proteazėmis didėja, nes veikimas jomis yra aplinkai draugiškas ir komerciškai naudingas apdorojant odas [2]. Fermentai odos pramonėje ne tik palengvina daugumą odos apdorojimo procesų, bet ir leidžia sumažinti priklausomybę nuo kenksmingų cheminių medžiagų, kurios paprastai naudojamos odai išdirbti [1].

Proteazės yra vienos svarbiausių pramoninių fermentų, jos sudaro 60 % visų parduodamų fermentų. Tai fermentai, kurie vykdo proteolizę – hidrolizuoja peptidinius ryšius, jungiančius aminorūgštis polipeptidinėje baltymo grandinėje [2].

Pastaruoju metu, odų minkštinimas yra tas procesas odų išdirbimo procesų grandinėje, kuriam atlikti (dermos struktūrai parenti) visada naudojami fermentai ir jokia kita medžiaga jų pakeisti negali. Nuo kokybiško odos minkštinimo priklauso sekančių procesų eiga ir galutinio produkto kokybė, todėl svarbu kuo daugiau žinoti apie šį procesą ir jam naudojamus fermentinius preparatus. Lietuvoje veikianti UAB „Baltijos Enzimai“ patiekė į rinką įvairių fermentinių preparatų, siūlomų naudoti maisto pramonėje (fermentacijos procesams), tarp jų ir pasižyminčių proteolitiniu veikimu. Akivaizdu, kad yra naudinga iširti galimybes šiuos preparatus pritaikyti odos išdirbimo procesams ir praplėsti tinkamų odos pramonei fermentinių preparatų asortimentą.

**Projekto tikslas** – iširti fermentinio preparato Vilzim Pro Alk poveikį odai minkštinimo metu, tokio minkštinimo įtaką kitiems technologiniams procesams ir įriebintos odos kokybiniais rodikliais, ir įvertinti šio fermentinio preparato tinkamumą odos minkštinimui. Šiam tikslui pasiekti buvo iškelti tokie **uždaviniai**:

1. Nustatyti fermentinių preparatų Vilzim Pro Alk ir Codeymac 5.0 M aktyvumo priklausomybę nuo terpės pH.
2. Įvertinti fermentinio preparato Vilzim Pro Alk įtaką minkštinamos odos pokyčiams ir palyginti su fermentinio preparato Codeymac 5.0 M poveikiu.

3. Ištirti minkštinimo fermentiniu preparatu Vilzim Pro Alk įtaką pikeliavimui ir chrominimui.
4. Nustatyti minkštinimo įtaką įriebinto pusgaminio cheminėms ir fizikinėms savybėms.
5. Infraraudonosios spektroskopijos analize įvertinti įvairiai minkštintos ir po to chromintos odos struktūrinius ypatumus.
6. Tyrimų rezultatus patikrinti gamybinėse sąlygose ir juos apibendrinus įvertinti fermentinio preparato Vilzim Pro Alk naudojimo odoms minkštinti galimybes.

# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1 Odos sandara ir sudėtis

Oda – didžiausias žinduolių organas, kuris veikia kaip barjeras, apsaugantis organizmą nuo išorinių veiksnių ir apsaugantis nuo organizme esančių medžiagų praradimo, ypač vandens. Tai sudėtinga struktūra, kuri taip pat dalyvauja medžiagų apykaitoje ir padeda reguliuoti organizmo temperatūrą. Odoje išsidėsčiusios nervų galūnės lemia šio organo savybę reaguoti į aplinkos dirginimus [3, 4, 5]. Oda gamina antimikrobinius peptidus, kurie užkerta kelią infekcijoms, taip pat hormonus, neuropeptidus ir citokinus, turinčius biologinį poveikį ne tik lokaliai odoje, bet ir kituose organuose ar audiniuose [6].

Oda susideda iš 3 sluoksnių ir plaukų dangos, kuri betarpiškai siejasi su epidermiu. Išorinis odos sluoksnis, epidermis, yra stipriai prisitvirtinęs ir palaikomas jungiamojo audinio, kuris yra po epidermiu esančio dermos sluoksnio dalis. Derma yra pagrindinis odos sluoksnis. Šis sluoksnis yra pats storiasis ir tvirčiausias. Po juo išsidėstęs vidinis odos sluoksnis – poodis. Poodis yra silpnai surištas su derma ir po juo esančiais organais. Poodyje paprastai yra gausu riebalų [3, 5].

Yra skiriami du odos tipai [7]:

- Plaukuota oda. Tai tokia oda, kurioje yra plaukų folikulų ir riebalinių liaukų.
- Oda be plaukų. Tokia oda dažniausiai yra ant delnų bei padų, ji turi storesnį epidermio sluoksnį, tačiau neturi plaukų folikulų.

Šikšnų gamybai panaudojama tik odos derma, o kailiams panaudojama derma, epidermis ir plaukų danga. Suardžius epidermio sluoksnį, plaukai iškrenta, todėl gaminant kailius svarbu išsaugoti epidermį. Gyvūnai, turintys silpnai išsivysčiusią plaukų dangą turi storesnį epidermio sluoksnį [5].

### *Epidermis*

Epidermis paprastai sudarytas iš keturių sluoksnių, skiriamų pagal keratinocitų morfologiją ir išsidėstymą. Iš karto ant pamatinės membranos išsidėstęs bazalinis sluoksnis. Virš jo yra spygliuotasis sluoksnis. Paskutiniai sluoksniai – grūdėtasis ir raginis suformuoja išorinį raginį sluoksnį, kuris funkcionuoja kaip pagrindinis odos barjero elementas [6].

Epidermio sluoksnius pirmiausia sudaro keratinocitai ir dendritinės ląstelės. Taip pat nustatytos ir kitų ląstelių populiacijos: melanocitų, Langerhanso ląstelių ir Merkelio ląstelių, tačiau keratinocitai sudaro daugiau nei 90 % visų epidermio ląstelių [8, 9].

Raginis sluoksnis (*lot. stratum corneum*) – pusiau pralaidus barjeras, sudarytas iš viena ant kitos išsidėsčiusių plokščių suragėjusių negyvų ląstelių. Šis sluoksnį išskirtinai sudaro tik keratinocitų ląstelės, savyje turinčios baltymo keratino, kurių tarpląstelinė erdvė užpildyta lipidais. Toks sluoksnis užtikrina efektyvų barjerą, kuris apsaugo nuo vandens netekimo bei infekcinių agentų ar toksiškų medžiagų patekimo [3, 7, 9].

Grūdėtasis sluoksnis (*lot. stratum granulosum*) yra išsidėstęs po raginiu, paprastai 5 – 10 ląstelių storio. Čia esantys keratinocitai yra plokštesni ir ne tokios vienodos formos kaip spygliuotame sluoksnyje. Tai paskutinis sluoksnis, kurį sudaro gyvos ląstelės [6, 7, 9].

Spygliuotojo sluoksnio (*lot. stratum spinosum*) pagrindą sudaro įvairios formos, dažniausiai kubinės, ląstelės, išsidėsčiusios 5 – 10 ląstelių storio sluoksniu ir sintetinančios keratinus, palaikančios jų struktūrą. Keratinocitai, esantys granuliniame sluoksnyje, atlaisvina Odlando kūnelius, lamelines granules ir keratinosomas, kurios sumažina vandens pralaidumą ir palengvina raginio sluoksnio ląstelių sukibimą. Keratinocitams bręstant ir migruojant į išorinį raginį sluoksnį, jos pasiruošia branduolio ir kitų organelių suskaidymui [7, 8, 9].

Bazalinis sluoksnis (*lot. stratum basale*) – tai giliausias epidermio sluoksnis, kuriame keratinocitai išsidėstę vienasluoksniu. Šis sluoksnis iš dalies sudarytas iš greitai besidalinančių aukštų koloninių ląstelių, kurių dalis palieka šį sluoksnį ir pereina į išorinius sluoksnius bei diferencijuojasi, kita dalis žūva dėl apoptozės. Bazaliniam sluoksniui priklausantys keratinocitai dažnai turi pigmento melanino, kurį gauna iš šalia esančių melanino turinčių melanocitų [6, 7, 8].

Taigi keratinocitai randami visuose keturiuose epidermio sluoksniuose, nes yra svarbūs odos struktūrai palaikyti. Keratinai, išsidėstę tonofilamentais, užtikrina vidinę ląstelių struktūrą ir gali sudaryti iki 80 % visų baltymų kiekio, esančio keratinocituose [9].

Po bazaliniu sluoksniu yra apibrėžtas ribas turinti pamatinė membrana, kuri apriboja ir atskiria epidermį nuo dermos. Šioje membranoje yra melanocitų, turinčių melanino, Langerhanso ląstelių, atpažįstančių antigenus ir pateikiančių juos imuninei sistemai bei Merkel ląstelių, jaučiančių odos spaudimą [7].

Pamatinės membranos struktūra užtikrina persidengiančių bazalinių ląstelių mechaninę atramą, skatina sukibimą, augimą, diferenciaciją ir migraciją, taip pat veikia kaip pusiau pralaidus filtras, kuris reguliuoja maistinių medžiagų ir ląstelių pernašą iš dermos į epidermį. Pamatinė membrana yra svarbi epidermio ir dermos sukibimui, nes padidina kontakto tarp jų plotą [3].

## *Derma*

Derma sudaryta iš kolageno ir elastino, turinčio ekstraląstelinio matrikso, sudaryto iš I tipo kolageno, kraujagyslių ir nervų galūnių. Ji išsidėsčiusi tarp epidermio ir poodinių riebalų, sudarančių poodį. Poodiniame sluoksnyje esantys riebalai padeda palaikyti dermos struktūrą bei maitinimą. Ši vidurinę sluoksnį sudaro jungiamasis audinys, didžiąja dalimi sudarytas iš kolageno ir minimalaus kiekio elastino. Sluoksnyje yra daug kraujagyslių ir nervų rezginių, palaikančių odoje kraujo cirkuliaciją, jos maitinimą ir jautrumą. Dermoje išsidėsčiusios tokios struktūros kaip plaukų folikulai, nervai, limfinės gyslos ir prakaito liaukos. Derma yra skirstoma į liaukinę ir tinklinę dermas. Liaukinė derma – plona zona, kuri artima epidermiui ir yra sudaryta iš laisvai išsidėsčiusio kolageno. Tinklinė derma yra storesnė, randama po liaukine derma, ji ribojasi su poodiniais riebalais ir audiniais. Epidermyje yra išsibarstę elastiniai pluoštai, suteikiantys lankstumo [3, 7].

Kolagenas yra gausiausias jungiamasis audinys dermoje, suteikiantis odai stiprumo ir tampumo. Liaukinė derma sudaryta iš plonų, prastai organizuotų III tipo kolageno pluoštų. Tinklinė derma sudaryta iš didelių, storų ir gerai organizuotų I tipo kolageno pluoštų. Didžioji dalis kolageno esančio odoje yra pluoštinės (fibrilių) formos, sudarytos iš trijų lygiagrečių kolageno polipeptidų (a-grandinių), sujungtų į kompaktišką dešinės rankos trigubą spiralę. Beveik kas trečia aminorūgštis šiuose polipeptiduose yra glicino liekanos, kurios palengvina tvirtai supakuotos struktūros formavimąsi [9].

Kaip ir visus jungiamuosius audinius, dermą sudaro trys komponentai: ąstelės, fibrilės ir amorfinė pamatinė medžiaga. Didžioji dalis dermos yra sudaryta iš susipynusių fibrilių, daugiausia iš kolageno, supakuoto į pluoštus. Tempiant odą, aukšto tempimo stiprio kolagenas apsaugo ją nuo plyšimo, o elastino fibrilės, susimaišiusios su kolagenu, vėliau grąžina į įprastą padėtį [3].

Elastino pluoštas sudaro maždaug 2 % sausos dermos. Šis pluoštas sudarytas iš dviejų skirtingų baltymų komponentų: amorfinės elastino šerdies ir supančios elastino audinio mikrofibrilinės dalies. Elastinas (molekulinė masė 72 kDa) yra sudarytas iš polipeptidų (turinčių daug glicino, desmosino ir valino) sujungtų į mikrofibrilių komponentus [3].

Elastininis pluoštas suteikia papildomo lankstumo odai. Dermoje elastiniai pluoštai yra sudaryti iš 15 % mikrofibrilių ir 85 % elastino matrikso. Mikrofibrilės suteikia elastingumo ir tamprumo elastiniam audiniui [9].

Pamatinė medžiaga yra sudaryta iš glikozaminoglikanų, kurie yra nešakotų polisacharidų grandinės iš pasikartojančių disacharidų vienetų ir matrikso, randamo tarp kolageno pluoštų. Kadangi kolagenas suteikia atsparumą tempimo jėgai, glikozaminoglikanai atlaiko spaudimo jėgas dėl jų polinkio transformuotis į labai ištemptas konformacijas ir gebos sorbuoti vandenį į ekstraląstelinį matriksą. Sieros

neturintys glikozaminoglikanai, tokie kaip hialurono rūgštis, sudaro didžiąją dalį dermos pamatinės medžiagos. Visi kiti glikozaminoglikanai, be hialurono rūgšties, yra kovalentiškai prijungti prie baltymų kaip proteoglikanai. Proteoglikanai dalyvauja daugelyje odoje vykstančių procesų [9].

Amorfinė dermos pamatinė medžiaga susideda iš dviejų glikozaminoglikanų (hialurono rūgšties ir dermatano sulfato) su mažesniais kiekiais heparono ir chondroitino sulfatų. Glikozaminoglikanai yra šerdiniai baltymų kompleksai, kurie egzistuoja kaip proteoglikanai. Pamatinė medžiaga atlieka keletą svarbių funkcijų:

- suriša vandenį, leidžia maisto medžiagoms, hormonams ir šalinamoms medžiagoms pereiti dermą;
- veikia kaip lubrikantas tarp kolageno ir elastininių pluoštų tinklų odai judant;
- veikia kaip išsibarstę dariniai, suteikiantys dermai savybę atlaikyti staigius fizinius poveikius. [3].

#### *Poodis*

Tai pats giliausias odos sluoksnis (kai oda yra ant gyvūno), didžiąja dalimi sudarytas iš riebalų, kurie suteikia mechaninę atramą, izoliaciją, termoreguliaciją, saugo nuo sužeidimų, gamina šilumą ir kaupia atsarginę energiją [7].

Poodį sudaro mažos riebalinės skiltelės, vadinamos lipocitais ar adipocitais, atskirtos pluoštine septa, kurioje yra arterijos, venos ir nervai, tiekiantys poodinius riebalus ir per juos veikiantys odą. Šios septos taip pat įtvirtina tinklinę dermą žemesniuose poodinių riebalų sluoksniuose [8].

Odos sudėtinės dalys yra vanduo, baltymai ir riebalai. Svarbiausias baltymas odos gamyboje yra kolagenas, kuris sudaro apie 29 % šviežios odos. Šviežios odos, iškart po skerdimo turi būti laikinai konservuojamos, kad galėtų būti pergabenamos ar laikomos iki pat odos išdirbimo. Dažniausiai naudojamas komercinis metodas odoms išsaugoti yra jų sūdyimas, siekiant gauti mažą vandens kiekį turinčią žaliavą [4].

#### **1.1.1 Kolagenas. Rūšys ir savybės**

Svarbiausia odos sandaros dalis – baltymas kolagenas. Šio baltymo savybės lemia cheminės modifikacijos galimybę, kuri leidžia odininkams nepatrauklią žaliavą paversti norimais produktais [4].

Kolagenas yra bendrinis baltymų, formuojančių charakteringą trigubą spiralę, sudarytą iš trijų polipeptidų grandinių, šeimos pavadinimas. Šiai šeimai priklauso daugiau nei 30 skirtingų tipų baltymų. Visi jie formuoja supramolekulinę struktūrą užląsteliniam matrikse, nepaisant savo dydžio ar funkcijos. Remiantis jų struktūra ir supramolekuline organizacija kolagenai yra grupuojami į:

- fibriles formuojančius kolagenus;

- su fibrilėmis susijungiančius kolagenus;
- tinklus formuojančius kolagenus;
- įtvirtinančias fibriles;
- transmembraninius kolagenus;
- pamatinės membranos kolagenus;
- kitus, pasižyminčius išskirtinėmis funkcijomis [10].

Kolagenas sudaro 70 – 80 % sausos dermos masės. Kolageno pluoštai yra sudaryti iš plonesnių fibrilių, kurios sudarytos iš mikrofibrilių, sudarytų iš individualių kolageno molekulių. Šios molekulės susideda iš trijų polipeptidų  $\alpha$ -grandinių (molekulinė masė 150 kDa) formuojančių trigubas spirales su abiem bespiraliais galais. Grandinės susideda iš pasikartojančių (G–X–Y) $_n$  sekų. Šiose sekose X dažnai yra prolinas, Y – hidroksiprolinas. Tokie sekų pasikartojimai leidžia formuotis trigubai spiralei – kolagenų šeimai būdingai struktūrai. Grandinių išlyginimas yra stabilizuojamas kovalentiniais skersiniais ryšiais, įtraukiančiais liziną ir hidroksiliziną. Kolagenas yra neįprastas baltymas, nes jame yra dideli prolino, hidroksiprolino ir glicino liekanų kiekiai. Kas trečia glicino amino rūgštis yra būtina trigubos spiralės formavimui [3, 11].

Kolagenai yra sudaryti iš aminorūgščių, kurios gali būti skirstomos į  $\alpha$ -aminorūgštis (prolinas, hidroksiprolinas) ir  $\beta$ -aminorūgštis (triptofanas). Visos aminorūgštys galuose turi terminalines amino ir karboksilo grupes, kurios dalyvauja sudarant peptidinį ryšį ir šonines grandines, kurios prijungtos prie metileno grupės, esančios molekulės centre. Šoninės grandinės ir jų išsidėstymas lemia daugumą baltymų savybių. Kolageno atveju šoninės grandinės lemia baltymo reaktingumą ir galimybę jį modifikuoti stabilizuojančiomis reakcijomis gaminant odos dirbinius, kai oda rauginama. Odoje ar jos sudėtinėse dalyse randamos visos žinomos aminorūgštys, tačiau odos išdirbimo procese kai kurios amino rūgštys yra svarbesnės, nes jos atlieka tam tikras apibrėžtas funkcijas. Svarbiausios aminorūgščių funkcijos yra pluoštinių struktūrų sudarymas (dalyvauja tokios aminorūgštys kaip glicinas, prolinas) ir dalyvavimas odos apdorojimo metu vykdomose baltymų modifikavimo reakcijose (pavyzdžiui, serinas ir cisteinas dalyvauja plikinimo metu vykstančiose reakcijose). [4].

Aminorūgštyse esantis peptidinis ryšys yra iš dalies įkrautas ir gali būti dviejų formų, kurios susidaro dėl elektroneigiamųjų skirtumo tarp deguonies ir azoto atomų. Abu peptidinį ryšį sudarantys atomai yra tik iš dalies įkrauti, tačiau šis dalinis krūvis turi didelės įtakos baltymo ir vandens tarpusavio sąveikai ir reagentų fiksavimui odos išdirbimo proceso metu, o ypač kai odos pusgaminis dažomas ir riebinamas [4].

Skirtingi kolagenų tipai charakterizuojami remiantis jų struktūros sudėtingumu ir įvairove, susijungimo variantais ir papildomų, nespiralinių sričių buvimu, agregatų sudarymu ir funkcijomis. Dažniausia ir plačiausiai paplitusi kolagenų šeima, kurią sudaro 90 % visų kolagenų yra fibriles formuojantys kolagenai. Nepaisant gana didelės struktūros įvairovės tarp skirtingų kolageno tipų, visi kolagenų šeimos nariai turi vieną charakteringą bruožą: dešininę trigubą spiralę, sudaryta iš trijų  $\alpha$ -grandinių [12].

Pagrindinis odos komponentas yra I tipo kolagenas. Daugumos tipų kolageno sintezė yra panaši, o geriausiai apibūdinta I tipo kolagenui. Pirmiausia preprokolageno  $\alpha$ -grandinės yra susintetinamos šiurkščiajame endoplazminiame tinkle, kuriame vyksta nuo vitamino C priklausomas lizino ir prolino aminorūgščių hidroksilinimas. Toliau iš 3  $\alpha$ -grandinių endoplazminiame tinkle suformuojama triguba spiralinė struktūra, vadinama prokolagenu, kuri sekretuojama iš ląstelės. Metaloproteazės suskaldo prokolageną, sukurdamos tropokolageną, kuris yra tūkstantį kartų mažiau tirpus nei prokolagenas. Šios tropokolageno molekulės susirenka savaime ir sudarydamos skersinius ryšius suformuoja kolageno skaidulas. Skersiniai ryšiai kolageno molekulėms suteikia tamprumo [9, 10].

I tipo kolagenas yra dažniausias ir geriausiai ištirtas kolagenas. Jis sudaro daugiau nei 90 % organinės kilmės kaulų masės ir yra pagrindinis sausgyslių, odos, raiščių, ragenos bei daugelio jungiamųjų audinių, išskyrus smegenis ir stiklakūnį, komponentas. I tipo kolageno triguba spiralė paprastai formuojama kaip heterotrimeras iš dviejų identiškų  $\alpha 1(I)$  – grandinių ir vienos  $\alpha 2(I)$  – grandinės. Trigubos spiralės fibrilės odoje dažniausiai sudaro kompleksus su III tipo kolagenu [12, 13].

III tipo kolagenas yra homotrimeras iš trijų  $\alpha 1(III)$  – grandinių yra plačiai paplitęs I tipo kolageno turinčiuose audiniuose, išskyrus kauluose. [13]. III tipo kolagenas yra svarbus plaučių, kepenų, dermos, blužnies ir kraujagyslių komponentas. Šis homotrimeras dažnai yra gausiai randamas elastinguose audiniuose kartu su heterotrimeru I tipo kolagenu [10, 11].

Medžiagos, paprastai naudojamos kolagenui skersryšiuoti (šikšninti) gyvūnų kailius/odas verčiant į išdirbtą odą, skirstomos į tris pagrindines grupes: mineralines, aldehydines ir augalų tanidų. Svarbiausias mineralinis šikšninimo reagentas yra hidratuotas bazinis chromo III sulfatas. Šis junginys suformuoja ištęstus daugiabranduolius koordinuotus kompleksus turinčius hidroksi, oksidinius ir sulfato tiltelius, į kuriuos jonizuotos karboksilinės grupės patenka kaip koordinuoti ligandai ir užbaigia surišimą. Koreguojant pH ir dalinai džiovinant suformuojami labai stabilūs kompleksai su dominuojančiais okso tilteliais ir baltyminėmis amido grupėmis įeinančiomis į kompleksą. Aldehydiniai taninai vykdo aldehido kondensacines reakcijas su kolageno amino grupėmis. Gaunami alfa – hidroksiaminai, kurie gali kondensuotis su kitomis kolageno amino grupėmis ir jas surišti. Apdorojant augalų tanidais



reagentai gali būti natūralūs augalų ekstraktai ar sintetiniai kompleksai. Šie tanidai yra didelės molekulinės masės polihidroksi junginiai, kurie neužtikrina surišimo efektyvumo [14].

Oda yra sudaryta iš trimačio susipynusių kolageno skaidulų pluošto. Kolagenas yra pluoštinis baltymas, kuris išsidėsto formuojant odą kaip statybiniai blokai. Odos išdirbimas apima nuoseklius procesus, kurių svarbiausias yra apdorojimas šikšninančiomis medžiagomis užtikrinant odos produktų patvarumą. Tokios medžiagos stabilizuoja trigubą spiralinę kolageno matricos struktūrą. Odos gamybos pramonėje yra naudojamos skirtingos šikšninančios medžiagos skirtingos paskirties odoms išdirbti. Kiekviena jų turi skirtingą efektyvumą stabilizuojant kolageną [15].

Reikėtų atkreipti dėmesį į kai kurias papildomas kolageno savybes: bioskaidumą, mažą imunogeniškumą ir galimybę gauti didelius jo kiekius. Šios savybės lemia susidomėjimą kolagenu medicinoje, kosmetikoje ir maisto pramonėje [10].

Odos kolagenas yra susijęs su keratinu (baltymai plaukuose, vilnoje ir naguose). Dauguma gyvūnų turi išorinį plaukų apdangalą, vilną arba kailį, kuris veikia kaip izoliuojantis sluoksnis ir padeda gyvūnui išlaikyti šilumą. Keratinas yra pluoštus formuojantis baltymas, kuris nuo kolageno skiriasi vienu svarbiu aspektu – polipeptidų grandinės yra sujungtos tarpusavyje disulfidiniais ryšiais. Sieros – sieros (S – S) ryšys tarp cisteino molekulių yra jautrus šarmams, todėl ryšys lengvai nutrūksta esant šarminiai aplinkai ar redukuojančiam agentui. Odos gaminių išdirbimas prasideda nuo plaukų pašalinimo nuo odos, o disulfidiniai ryšiai leidžia tai gana lengvai pasiekti. Oda susideda iš smulkių susipynusių kolagenų plaušelių, kurių kiekviena yra sudaryta iš smulkių fibrilių. Odadirbio tikslas yra išpurenti pluoštelių, pašalinti bet kokias nepageidaujamas medžiagas, stabilizuoti ir išsaugoti struktūrą tam, kad išlaikyti naudingas savybes [4].

## **1.2 Proteazės ir jų panaudojimas pramonėje**

Proteolitiniai fermentai (proteazės) katalizuoja peptidinio ryšio skilimo reakcijas baltyminiuose substratuose. Baltymų suskaidymas iki aminorūgščių lygio gali būti naudojamas maistingumui didinti arba katabolizmo reakcijose. Proteolizė yra viena iš svarbiausių papildomų biologinių procesų. Pavyzdžiui, proteazės [16]:

- Reguliuoja daugelio baltymų veikimo paskirtį ir buvimo vietą;
- Reguliuoja daugelio baltymų biologinį aktyvumą;
- Moduliuoja baltymo – baltymo sąveikas;
- Turi įtakos kai kurioms ląstelių signalų perdavimo formoms.

Proteazės yra struktūriškai ir funkciškai įvairi baltymų šeima. Šiai šeimai priklausantys baltymai varijuoja dydžiu nuo mažų vienagrandžių maždaug 20 kDa polipeptidų iki didelių daugialypių subvienetų kompleksų, kurių masė siekia iki kelių tūkstančių kilodaltonų. Kai kurios proteazės turi labai platų substratų specifiškumą, o kitos yra labai specifiškos ir hidrolizuoja tik vieną peptidinį ryšį vienoje peptidinėje grandinėje. Proteolitiniai fermentai yra viena didžiausių ir svarbiausių fermentų grupių, naudojamų pramonėje. Šie fermentai jau ilgą laiką yra naudojami maisto bei ploviklių pramonėje ir neseniai buvo pradėti naudoti odos pramonėje bei medicinoje terapiniams tikslams [16]. Proteazių taikymo pramonėje pavyzdžiai pateikti 1.1 lentelėje.

**1.1 lentelė.** Pramoninis proteazių panaudojimas [16, 17, 18, 19, 20].

Pramonės šaka	Proteazių pritaikymas
Gėrimai	Grūdų baltymams tirpinti, alui stabilizuoti.
Plovikliai	Katalitiškai skaidyti baltymines dėmes ant drabužių.
Duona / konditerija	Glitimo elastingumui modifikuoti.
Sūrių gamyba	Kazeinui koaguluoti ir varškei suformuoti; Sūriams nokinti, pienui sutraukti, kūdikių mišiniams gaminti, skoniui stiprinti.
Odos gaminiai	Plaukams nuo odos šalinti, odai minkštinti.
Mėsa	Mėsai minkštinti.
Plaušai ir popierius	Bioplėvelėms šalinti.
Baltyminės kilmės atliekos	Fermentams skaidyti.
Medicina / farmacija	Terapinis pritaikymas.

Proteazių pritaikymo galimybių greitai daugėja, nes naujausia technologinė pažanga leidžia kurti vis daugiau proteazių su naujomis savybėmis ir substrato specifiškumu [18]. Pramonėje naudojami proteolitiniai fermentai yra išgaunami iš įvairių šaltinių, o patys naujaisi atrasti naudojant rekombinantinę gamybą ir inžineriją [16].

Proteazės gali būti klasifikuojamos pagal daugelį kriterijų, tačiau dažniausiai yra grupuojamos pagal hidrolizuotos peptidinės jungties poziciją arba pagal molekulinį mechanizmą, kuriuo vykdo hidrolizę. Remiantis panašia ryšio pozicija tarp baltymų ir substrato, proteazės gali būti apibūdinamos kaip egzopeptidazės arba endopeptidazės. Egzopeptidazės gali būti toliau skirstomos į aminopeptidazes, dipeptidil peptidazes, tripeptidil peptidazes, karboksipeptidazes ir peptidil dipeptidazes. Endo-

peptidazių skeliančios peptidinės jungtys yra baltymų viduje, dažniausiai tam tikru atstumu nuo karboksilo arba amino galo. Dauguma tokių fermentų (ir egzopeptidazės, ir endopeptidazės) taip pat yra šiek tiek selektyvūs peptidiniam ryšiui, kurį jie hidrolizuoja, pavyzdžiui, chimotripsinas hidrolizuoja peptidinius ryšius, esančius greta aromatinių aminorūgščių liekanų [16].

Remiantis veikimo mechanizmu proteazės yra klasifikuojamos į 6 kategorijas: aspartato, cisteino, gliutamato, metalo, serino ir treonino. Šių klasių proteazės gali būti toliau sugrupuotos į šeimas, remiantis aminorūgščių seka, o šeimos gali būti sugrupuotos į klanus, remiantis jų trimačių struktūrų panašumu [21].

Dauguma šiuo metu pramonėje naudojamų fermentų yra hidrolitiniai, ir yra naudojami įvairių natūralių medžiagų skaidymui. Proteazės išlieka dominuojančiais pramonėje fermentais, nes yra plačiai naudojamos ploviklių ir pieno pramonės įmonėse. Antroji pagal dydį grupė – įvairios karbohidrazės, pavyzdžiui, amilazės ir celiulazės, naudojamos krakmolo, tekstilės, ploviklių ir kepimo pramonės šakose. Per pastarąjį dvidešimtmetį sparčiausias fermentų naudojimo augimas stebimas kepimo ir gyvūnų pašarų pramonėje, tačiau šis augimas taip pat kyla dėl fermentų pritaikymų daugelyje kitų pramonės šakų, tokių kaip organinės sintezės ar popieriaus ir celiuliozės bei asmeninės priežiūros produktų [17].

Proteazės ploviklių, odos bei maisto pramonėje pradėtos taikyti prieš kelis šimtus metų, pavyzdžiui, šarminės proteazės buvo naudojamos pašalinti plaukams nuo odos, kepenų proteazių ekstraktai naudojami plovikliams ir odos gamyboje, šliužo fermentas iš veršelių skrandžių pienui sutraukti sūrio gamybos metu ir papainas iš papajų mėšai minkštinti [22].

Didelė dalis komerciniu būdu gautų proteolitinių fermentų dabar yra naudojami plovikliams. Šie fermentai pirmą kartą ploviklių preparatams gaminti panaudoti praėjusio amžiaus pabaigoje. Nedaug tokių produktų buvo sėkmingi, nes pasirinkti fermentai, dažniausiai iš gyvūninės kilmės šaltinių, visada buvo inaktyvuojami kitų ploviklio komponentų arba tolesnio plovimo proceso [16].

Unikali proteazių katalitinė veikla ir palyginti žema kaina lemia šių fermentų pasirinkimą pramoninei peptidinių junginių hidrolizei. Tačiau proteazių pritaikymas komerciniam naudojimui dažnai reikalauja, kad jie fermentai išlaikytų aukštą aktyvumą nefiziologinėmis sąlygomis, pavyzdžiui, esant aukštai temperatūrai ir pH, esant intensyvių kalcio kompleksus sudarančių junginių ir ploviklių. Natūraliai dauguma proteazių yra nestabilios arba neaktyvios šiomis nefiziologinėmis sąlygomis. Proteazių inžinerija pasitelkiant kryptingą mutagenezę arba nukreipiančią evoliuciją gali sukurti proteazes su patobulintomis funkcijomis, kurios atitiktų komercinės paskirties reikalavimus [18].

Aukštas termostabilumas yra būtinas proteazėms, kurios naudojamos skalbinių plovikliams ar odos gamybos metu. Aukštos temperatūros gali suardyti nekovalentinius ryšius susilanksčiusiuose baltymuose ir taip suardyti jų struktūrą. Fermentui išsilankstant atidengiamos hidrofobinės baltymo dalys, kurios gali sukelti baltymų agregaciją. Baltymai taip pat gali būti inaktyvuoti vykstant kai kuriems kovalentinių ryšių nutraukimo procesams, tokiems kaip asparagino ir glutamino liekanų deaminimas, peptidinio ryšio hidrolizė, disulfidinio ryšio beta eliminavimas ar cisteino ir metionino liekanų oksidacija [23].

### 1.2.1 Fermentų taikymas išdirbant odas

Odos pramonės nuotekos ir atliekos, susidariusios po skirtingų odos apdirbimo stadijų, yra pavojingos sveikatai ir kelia aplinkosaugos problemas [24]. Biologiškai skaidūs fermentai yra veiksminga alternatyva pagerinti odos kokybę ir sumažinti atliekų kiekį [25]. Pirmasis bandymas pritaikyti fermentus odos pramonėje buvo skirtas plaukų šalinimo nuo odos stadijoje, kuri reikalauja didelio kiekio fermentų, tokių kaip proteazės, lipazės ir amilazės [26, 27]. Fermentai reikalingi palengvinti procedūroms ir pagerinti odos kokybei įvairiuose odos išdirbimo, pvz., konservavimo, mirkymo, kalkinimo, plaukų šalinimo, minkštinimo, pikeliavimo, riebalų pašalinimo ir šikšninimo etapuose (1.2 lentelė) [28].

1.2 lentelė. Odos pramonėje naudojamų fermentų taikymas [1, 29].

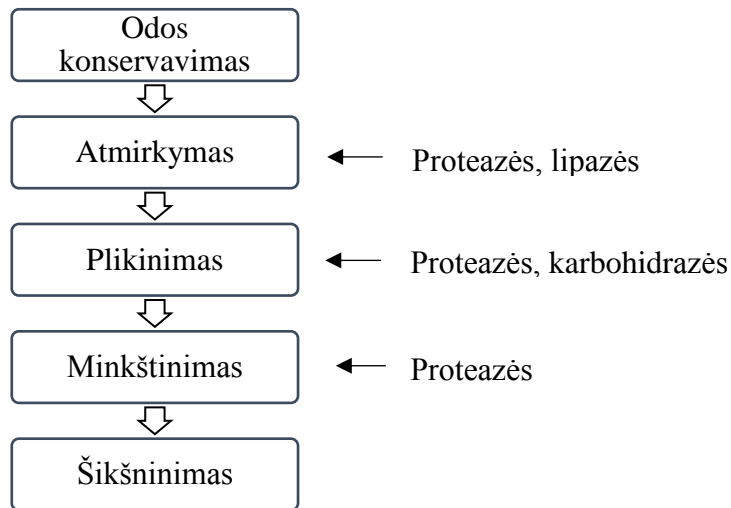
Fermentas	Taikymas
Šarminė proteazė	Plaukams šalinti, odai minkštinti
Neutrali proteazė	Plaukams šalinti, atmirkymui
Lipazė	Riebalams iš hipodermos šalinti
Amilazė	Plaušams atskirti
Keratinazė	Plaukus ir epidermį sudarančiam keratinui hidrolizuoti ir disulfidinėms jungtims šioje molekulėje nutraukti

Odos pramonėje naudojami fermentai dažniausiai yra šarminės proteazės, neutralios proteazės ir lipazės. Šarminės proteazės yra naudojamos nefibriliniams baltymams pašalinti mirkant, minkštinant, kad oda būtų minkšta, elastinga ir lanksti. Neutralios ir šarminės proteazės, naudojamos plaukams šalinti, siekiant sumažinti vandens sunaudojimą proceso metu ir atsikvoti sulfidų [30]. Taip pat, lipazės yra naudojamos riebalams šalinti [24; 31]. Fermentų, o ne cheminių medžiagų, naudojimo

kalkinant pranašumai yra nedėmeta plikė, sumažėjęs kvapas, mažas cheminis (ChDS) ir biocheminis deguonies sunaudojimas (BDS) nuotekose bei geresnis plaukų atgavimas [29].

Odos išdirbimas iš gyvūnų kailių/odų yra daug stadijų turintis procesas (1.1 pav.). Fermentai naudojami keliuose odos gamybos etapuose. Gyvūnų oda daugiausia susideda iš šių komponentų: vandens (64 %), baltymų (daugiausia kolageno, 33 %), lipidų (2 %) ir mineralų (0,5 %). Odos gamybos procesas iš esmės apima lipidų, vandens ir kai kurių paviršiaus baltymų (pvz., plaukų) pašalinimą, dalinį kolageno suardymą ir jo vėliau susiuvimą apdorojimo metu. [16].

Proteazės hidrolizuoja baltymų sancaupas dermoje, verčia kolageną labiau prieinamu vandeniui ir susilpnina pamatinio sluoksnio prisitvirtinimą. Šie fermentai taip pat šalina sferinius baltymus [1].

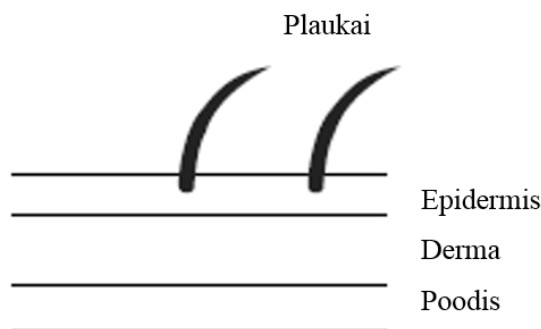


**1.1 pav.** Odos gaminimo proceso schema, kurioje pateikti procesai bent dalinai priklausantys nuo fermentinio apdorojimo [16].

Odos gamybos metu naudojamas platus spektras proteazių, įskaitant išskirtas iš gyvūnų kasos bei mikrobinės proteazės (rūgštinės, neutralios, šarminės ir iš grybų išskirtos proteazės). Augalinės kilmės proteazės (papainas ir bromelainas) taip pat buvo naudotos odos gamybos procesuose kaip ir karbohidrazės bei lipazės, nors šie fermentai nėra plačiai pritaikyti pramonėje. Fermentai padeda skaidyti ir tokiu būdu šalinti nepageidaujamus odos komponentus. Kaip šalutinis tokio odos apdorojimo efektas yra mažesnis cheminio apdorojimo poreikis. Tai naudinga aplinkai, nes susidaro mažiau cheminių atliekų [16].

Šiuo metu plikimo procesas dažnai apima proteolitinių fermentų (šarminių mikrobinės kilmės proteazių) naudojimą, kuris leidžia žymiai sumažinti reikalingų (tačiau teršiančių) cheminių medžiagų kiekį. Taip pat buvo pastebėtas sinerginis proteazių ir karbohidrazių poveikis plaukų šalinimo metu.

Toks efektas gali būti stebimas dėl karbohidrazės paveiktų proteoglikanų skilimo pamatinėje membranoje (epidermyje), supančioje plaukų šaknis, kaip pavaizduota 1.2 paveiksle. [17].



**1.2 pav.** Odos struktūra [16].

Epidermyje, kuris sudaro apytiksliai 1 % odos, yra plaukų šaknys, riebalų ir prakaito liaukos. Derma, sudaranti apytiksliai 84 % odos, yra daugiausiai sudaryta iš kolageno bei jungiamojo audinio. Poodis sudaro apytiksliai 15 % odos, o jame išsidėsčiusios kraujagyslės, nervai, raumenys, jungiamasis audinys bei riebalai [17].

Odos išdirbimo metu susidarančių šalutinių produktų bei atliekų kiekiai priklauso nuo veislės, skerdimo būdo, konservavimo metodo ir plaukų šalinimo bei odos šikšninimo technologijos. Kal-kės/sulfidai plačiai naudojami plaukams šalinti, nes yra efektyvesni ir pigesni už kitas šiuo metu turimas medžiagas. Chromo druskos yra dažniausiai naudojamos šikšninimo medžiagos [1].

Nuotekose esanti siera atsiranda iš organinių medžiagų (ypač plaukų) ir iš junginių, naudojamų odos išdirbimui, įskaitant aktyvias paviršiaus medžiagas, ir tirpias medžiagas, naudojamas proceso metu, tokias kaip natrio sulfidas ( $\text{Na}_2\text{S}$ ). Siera randama nuotekose sulfatų ir sulfidų pavidalu. Sieros vandenilio ( $\text{H}_2\text{S}$ ) susidarymo rizika nuotekų valymo metu kelia rimtą aplinkosaugos problemą. Norint išvengti vandenilio sulfido susidarymo iš nuotekų, sulfidas turi būti oksiduojamas, o tai reikalauja papildomo proceso nuotekų valymui. Plikinimo procesas gali būti atliekamas ir naudojant bakterijas ar chemines medžiagas, tokias kaip vandenilio peroksidas ir natrio hipochloritas. Tradiciškai odos išdirbimo įmonės naudoja fermentus minkštinimo proceso metu, kad atliktų giluminį odos valymą. Fermentai taip pat buvo naudojami ir plaukų šalinimo procese praėjusio amžiaus pradžioje iki plaukų šalinimo cheminių procesų sukūrimo. Fermentai tampa vis svarbesni, nes jų naudojimas laikomas ekologiškomis technologijomis, be to, pasiekta ženkli pažanga išgaunant fermentus, juos valant bei tobulinant. Fermentai šiuo metu taikomi įvairiuose odos išdirbimo etapuose, nuo pačių pirmųjų iki paskutiniųjų [1].

### 1.2.2 Fermentinis plikinimas

Fermentinis plaukų šalinimo būdas yra patrauklus, nes leidžia išsaugoti nesuardytus plaukus ir prisideda prie proceso neorganinių atliekų mažinimo. Taip pat, šio proceso metu taikant fermentinį apdorojimą minimizuojama arba pašalinama priklausomybė nuo kenksmingų cheminių medžiagų, tokių kaip sulfidas, kalkės ar aminorai [1, 32].

Plikinimas yra vienas iš pagrindinių procesų apdorojant odą. Šiam procesui įvykdyti gali būti taikomi 5 metodai: nukirpimas, nudeginimas, cheminis plikinimas, tvilkymas (oda 1 – 2 minutėms įmerkiama į 60 – 65 °C temperatūros vandenį) ir fermentinis plikinimas [33]. Dažniausiai taikomas cheminis plikinimas. Nors šio metodo efektyvumas yra didžiausias, tačiau jam būdingi ir trūkumai:

- šis metodas didina aplinkos taršą. Jam tenka 70 – 80 % viso odos išdirbimo proceso cheminio deguonies sunaudojimo nuotekose. Taip pat šio proceso metu susidaro 75 % visų gamyklos organinių atliekų. Didžiąją dalį jų sudaro plaukų irimo produktai, kurių sudėtyje yra daug azoto.
- sulfidas yra labai toksiškas ir skleidžia nemalonų kvapą. Neapdorojus sulfido atliekų, jos gali sukelti daug problemų odininkams.
- stipri šarminė aplinka, kelia pavojų darbuotojams [34].

Tradiciniu laikomame odos gaminimo procese oda yra apdorojama cheminėmis medžiagomis: kalkėmis ir natrio sulfidu. Sulfidas suardo plaukuose ir epidermyje esančio keratino disulfidinius ryšius, ir taip plaukai pašalinami nuo odos. Kalkės prisideda prie kolageno struktūros purenimo pašalindamos didžiąją dalį glikozaminoglikanų. Šiuo metu, kaip alternatyva cheminiam plikinimui taikomas fermentų pagrindu veikiantis procesas, kurio metu naudojamos proteazės, siekiant išvengti kalkių ir sulfido, žalingų aplinkai, naudojimo. Nors ir cheminis, ir fermentinis odos pašalinimo procesas yra skirtas pašalinti nekolageninius baltymus ir proteoglikanus ir purentii kolageno pluoštą, fermentinio proceso mechanizmas skiriasi nuo cheminio. Tyrimų metu nustatyta, kad bakterinės proteazės skaido mažos molekulinės masės baltymą dekoriną, o toliau sekantis proteoglikanų šalinimas turi didelės įtakos purenant kolageno plaušelius fermentinio plikinimo metu [35].

Per pastaruosius kelis dešimtmečius ekologiškai švarių plaukų šalinimo metodų tyrimų vis daugėja dėl augančio aplinkosauginio sąmoningumo. Fermentinis plikinimas yra įdomus ir todėl, kad gali išsaugoti nesuardytus plaukus ir taip sumažinti išleidžiamų į nuotekas organinių medžiagų kiekį. Šie procesai pašalina ar sumažina priklausomybę nuo kenksmingų cheminių medžiagų, tokių kaip sulfidas, kalkės ir aminorai [1].

Tyrimų metu pastebėta, kad fermentinis plikinimas yra tinkamas tiek techniškai, tiek ekonomiškai. Tokio proceso metu apdorojimas kalkių ir sulfido tirpalu pakeistas metodu, kurio metu oda įmerkiama į fermentų bei natrio metasilikato tirpalą, ištraukiama ir sudedama ištiesta viena ant kitos [36]. Palyginus tradicinius metodus ir siūlomas technologijas nustatytas žymus aplinkosauginių parametru verčių sumažėjimas, įskaitant cheminio deguonies sunaudojimo (ChDS) ir bendro kietųjų dalelių kiekio, atitinkamai 55 % ir 25 %, todėl pasiūlytas ekologiškas sprendimas odos išdirbimo įmonėms – naudoti fermentinius plikavimo metodus, leidžiančius praleisti pikeliavimą [37]. Taip pat yra siūloma naudoti fermentus plikavimui esant mažam pH, kad būtų išvengta kalkių, kurios lemia stiprų šarminį pH, naudojimo [38].

Fermentinio plikavimo privalumai:

- Leidžia žymiai sumažinti natrio sulfido naudojimą arba jo visiškai išvengti;
- Sukuria ekologiškai palankią darbuotojams aplinką;
- Fermentais plikintos odos pasižymi geresnėmis fizikinėmis savybėmis, yra stipresnės ir turi didesnę paviršiaus plotą;
- Odos išdirbimo procesas tampa paprastesniu, nes procesas sutrumpinamas vienu etapu, pavyzdžiui, praleidžiamas minkštinimo etapas;
- Fermentų prigimtis plikavimo metu gali sutrumpinti procesą. Cheminis plikavimas trunka apie 16 valandų, o fermentinis plikavimas gali trukti 12 – 20 valandų [39].

Nepageidaujamas cheminių medžiagų prisijungimas poodiniame sluoksnyje plikavimo metu yra problema odos gamybos pramonėje. Tai yra dar viena priežastis kodėl ieškoma alternatyvų sulfidiniam plikavimui. Odininkai dažnai nesiryžta naudoti fermentų komerciniu lygmeniu plikavimo proceso metu dėl fermentų jautrumo ir stabilumo, kuris gali kisti esant skirtingoms aplinkos sąlygoms (pakitus pH, temperatūrai ar proceso trukmei).[40, 41].

### **1.2.3 Minkštinimo tikslai ir būdai**

Minkštinimo proceso tikslas – atpalaiduoti ir nutraukti peptidinius nekolageninių baltymų ryšius ir pašalinti šias liekanas, esančias tarp kolageno fibrilių bei epidermyje ir taip išvalyti bei išpurenti kolageno struktūrą. Toks odos apdorojimas paverčia ją minkšta ir elastinga, taip pat paruošia tolesniam šikšninimo etapui. Minkštai ir elastingai odai išdirbti, minkštinimas turi būti labai intensyvus, pavyzdžiui, piniginėms ar pirštinėms, o švelnesnėse sąlygose minkštinta ir išdirbta oda naudojama batams ar jų padams. Minkštinimas yra agresyvus apdorojimas, kuris yra būtinas kokybiškai odai gauti. Jei proceso metu nepašalinami nekolageniniai baltymai, tai lemia kolageno pluoštų sulipimą vienas su kitu, todėl kai oda yra išdžiovinama, ji tampa kieta ir nelanksčia [24].



Klasikinis minkštinimo procesas vykdomas šarminėje aplinkoje naudojant proteolitinius fermentus, išskirtus iš kasos arba bakterinės kilmės. Tokio proceso efektyvumas priklauso nuo fermentų koncentracijos, temperatūros, pH ir trukmės. Minkštinimas esant šarminėms sąlygoms yra visuotinai odos pramonėje pripažįstamas metodas, tačiau, kad procesas būtų veiksmingas turi būti palaikomos sąlygos: 35 – 38 °C temperatūra ir pH 7,5 – 8,5, kitaip fermento efektyvumas labai sumažėja. Minkštinimui naudojamų fermentų efektas odoje pasireiškia fermentams difunduojant į odą, todėl didžiausia fermentų koncentracija aptinkama išoriniuose odos sluoksniuose, tai ypač būdinga sprando ir užpakalio sritims. Dėl nepakankamos fermentų difuzijos į neskeltą odą jie gali nepasiekti vidurinio odos sluoksnio, todėl nepageidaujami baltymai tuose odos sluoksniuose yra nepilnai suskaidomi [24].

Po plikavimo oda paprastai apdorojama, kad sumažinti jos pH beveik iki neutralaus. Tada pradedamas fermentinis minkštinimo procesas. Minkštinimo proceso tikslas yra pašalinti iš odos nekologinius baltymus – glikoproteinus, proteoglikanus, dalį keratino bei elastino. Šių baltymų pašalinimas ne tik išvalo odoje susidariusį kolageno tinklą, tačiau kartu jį atpalaiduoja – oda tampa minkštesnė. Iš kepenų išskirtos proteazės (labiausiai tripsinas) mišinyje kartu su mikrobinės (*Bacillus* ir *Aspergillus*) kilmės proteazėmis yra dažniausiai taikomos minkštinimo proceso metu, nes šalinant nekologinius baltymus mažiausiai paveikia kolageno tinklą. Labai minkštai odai gauti naudojamos didesnės fermentų koncentracijos. Po minkštinimo oda jau yra paruošta chemiam apdorojimui sekančiame procese, kurio metu skersiniais ryšiais sujungiamos kolageno makromolekulės ir gaunama išdirbta oda – produktas [16].

Minkštinimo procesui fermentai taikomi jau seniai. Minkštinimas buvo suprantamas kaip odų apdorojimas šiltu gyvūnų mėšlo tirpalu, o pagrindinis minkštinimo tikslas – odos neformuojančių sudėtinių dalių pašalinimas (albuminų, globulinų) ir kolageno plaušelių atskyrimas siekiant palengvinti tolesnio šikšninimo medžiagų įsiskverbimą į odą. Tokiu būdu buvo suteikiamos norimos savybės galutiniam produktui – minkštumas, elastingumas ir kitos [33].

Minkštinimas dažnai vykdomas kartu su nukalkinimo procesu, nors tai yra du visiškai skirtingi procesai. Pagrindinės minkštinimui naudojamos medžiagos yra proteolitiniai fermentai bei fermento nešikliai, pavyzdžiui, medienos dulkės, kartu su tinkama nukalkinimo medžiaga (amonio chloridas arba sulfatas, arba abu). Nukalkinimo medžiagos naudojamos pašalinti kalcio druskas, kurios susidaro naudojant kalkes prieš minkštinimą vykdomame plikavimo procese. Daug proteolitinių fermentų yra jaučio ar kiaulės kasoje, tačiau šie fermentai yra neaktyvios formos: chimotripsinas kaip chimotripsinogenas, tripsinas kaip tripsinogenas ir karboksipeptidazė kaip prokarboksipeptidazė, todėl šiuos fermentus būtina aktyvuoti prieš naudojimą [33].

Minkštėjimo procesui taip pat naudojamos ir proteazės, išskirtos iš *Aspergillus* rūšies pelėsio. Šios proteazės taip pat gali būti naudojamos ir odai plikinti. Buvo sukurta metodika kiaulių odai minkštinti, naudojant fermentinį preparatą išskirtą iš bakterijų *B. subtilis*, o šiuo preparatu minkština- mos odos pasižymi geromis fizikinėmis ir cheminėmis savybėmis. Dėl būdingo *S. rimosus* ir *B. licheniformis* bakterijų poveikio buvo ištirti šių bakterijų preparatai ir nustatyta, kad poveikis kolage- nui buvo mažesnis naudojant mikrobines proteazes nei kasos proteazes. Teigiama, kad pelėsių ir kasos fermentų preparatų mišinys tinkamomis proporcijomis bus idealus įvairių rūšių odai minkštinti [39].

#### **1.2.4 Fermentų naudojimas kituose išdirbimo procesuose**

Šviežia, neapdorota oda yra neatspari mikroorganizmams, todėl pirmas žingsnis išdirbant odą yra konservavimas. Oda gali būti konservuojama išdžiovinant ore arba pašalinant iš jos vandenį ir sūdan- t. Toks pirminis odos apdorojimas leidžia odą saugiai sandėliuoti ar pergabenti. Tolesnis odos apdorojimo etapas – atmirkymas – vandens sugražinimas odai. Šis žingsnis labai svarbus, nes oda ne tik atgauna lankstumą, tačiau šis procesas padeda pašalinti ir neskaidulinius baltymus (globulinius ir albuminus) iš odos. Šiame etape oda kelioms valandoms įmerkama į vandenį, kuriame yra dezinfekuojančių, konservuojančių medžiagų ir fermentų. Tradiciškai šiam procesui dažniausiai taikomos iš kepenų išskirtos proteazės, nes jos efektyviai skaido globulinius baltymus, tačiau neskaido kolageno jungčių (taip apdorota oda yra beveik grynas kolagenas). Neutralios bei šarminės bakterinės proteazės taip pat pradedamos taikyti atmirkymo metu. Pankreatinas (kuris šalia proteazinio aktyvumo pasižymi ir lipaziniu aktyvumu) taip pat kartais naudojamas, o tyrimai rodo, kad papildomas lipazinis aktyvu- mas padeda išvalyti odą, nes inicijuoja lipidinių komponentų skaidymą. [17].

Odos rauginimas yra odoje esančių kolageno skaidulų reakcija su tanidais, chromu ar kitomis šikšninančiomis medžiagomis. Dažniausiai naudojamos šikšninančios medžiagos yra trivalenčio chromo oksidas ir tanidai, kurie išgaunami iš specifinės medžio žievės. Sintanai (sintetiniai tanidai), formaldehidas, glutaraldehidas taip pat naudojami šikšnininimui [5].

## 2. MEDŽIAGOS IR TYRIMŲ METODAI

### 2.1 Darbo objektas, naudotos medžiagos ir apdorojimo metodikos

Tyrimams naudota konservuota sūdytu karvės vidutinė oda (svorinė kategorija 20 – 22 kg). Bandymams laboratorijoje oda supjaustyta 15 x 15 cm dydžio gabalėliais, iš kurių buvo formuojamos bandinių serijos. Didesnis bandinys (23,2 kg masės odos puselė) išdirbtas UAB „Kėdainių oda“ kartu su pilna gamybine partija pagal įmonėje veikiančią odų išdirbimo technologiją.

Darbe naudotos medžiagos ir jų charakteristikos pateiktos 2.1 ir 2.2 lentelėse.

**2.1 lentelė.** Naudotos medžiagos ir jų charakteristikos.

Medžiagos pavadinimas	Formulė	Grynumas
Natrio karbonatas	$\text{Na}_2\text{CO}_3$	p.a./G.R. 99,0 %
Kalcio hidroksidas	$\text{Ca}(\text{OH})$	Chemiškai švarus, 99,0 %
Natrio sulfidas	$\text{Na}_2\text{S}$	p.a./G.R. 60 %
Amonio sulfatas	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Chemiškai grynas, 99,9 %
Vandenilio peroksidas	$\text{H}_2\text{O}_2$	p.a./G.R. 30,0 %
Vario sulfatas	$\text{CuSO}_4$	p.a./G.R. 99,0 %
Natrio šarmas	$\text{NaOH}$	Chemiškai švarus, 99,0 %
Karbamidas	$(\text{NH}_2)_2\text{CO}$	p.a./G.R. 99,5 %
p-dimetilaminobenzaldehidai	$(\text{CH}_3)_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CHO}$	p.a./G.R. 99,0 %
Izopropilo alkoholis	$\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$	p.a./G.R. 99,7 %
Sieros rūgštis	$\text{H}_2\text{SO}_4$	p.a./G.R. 96,0 %
Natrio chloridas	$\text{NaCl}$	p.a./G.R. 99,9 %
Natrio formiatas	$\text{NaHCOO}$	p.a./G.R. 99,0 %
Kalio jodidas	$\text{KI}$	p.a./G.R. 99,5 %
Natrio tiosulfatas	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	p.a./G.R. 99,0 %
Azoto rūgštis	$\text{HNO}_3$	Analitiškai švari, 70 %
Perchlorato rūgštis	$\text{HClO}_4$	ACS reagentas, 60 – 70 %
Druskos rūgštis	$\text{HCl}$	p.a./G.R. 36,5 %

Acto rūgštis	CH <sub>3</sub> COOH	p.a./G.R. 99,0 %
Orto fosforo rūgštis	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	p.a./G.R. 85,0 %
Boro rūgštis	B(OH) <sub>3</sub>	p.a./G.R. 99,9 %
Dichlormetanas	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ACS reagentas
Kalio bromidas	KBr	p.a./G.R. 99,9 %
Natrio kazeinatas	-	Chemiškai švarus
Natrio heksafluoridas	Na <sub>2</sub> SiF <sub>6</sub>	p.a./G.R. 99,0 %
<i>L-Tirozinas</i>	O(CC(N)C(=O)O)	Chemiškai švarus

**2.2 lentelė.** Techniniai produktai.

Techninis produktas	Gamintojas (pateikėjas)
Chromo ekstraktas „Chromal“, bazingumas 33 %	Boruta, Lenkija
Neutragene MG – 120 (chromo junginių bazingumui padidinti)	Codeyeco, Italija
Žibalas	Eurochemicals, Lietuva
Skrudžių rūgštis	Eurochemicals, Lietuva
FP Codeymac 5.0 M	Codeyeco, Italija
FP Vilzim PRO Alk	JSC „Baltijos enzimai“, Lietuva
Oleal 146	Codeyeco, Italija
Oleal 1946	Codeyeco, Italija
Fospholiker 661	Codeyeco, Italija
Fospholiker 6146	Codeyeco, Italija

Darbo metu chromintas pusgaminiis laboratorijoje išdirbtas pagal įprastinę chrominto pusgaminio išdirbimo metodiką (2.3 lentelė).

**2.3 lentelė.** Įprastinė chrominto pusgaminio išdirbimo metodika.

Proceso pavadinimas	Proceso parametrai			Pastabos
	Medžiagos pavadinimas ir kiekis % nuo šviežios odos (A dalis), plikės (B dalis) ar chrominto pusgaminio (C dalis) masės	t, °C	Trukmė	
<b>A dalis</b>				
Plovimas	H <sub>2</sub> O – 200;	19 – 21	30 min	Maišoma pastoviai
	H <sub>2</sub> O – 200;	19 – 21	30 min	Maišoma pastoviai
Atmirkymas	H <sub>2</sub> O – 160, Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (100 %) – 1,40, Na <sub>2</sub> SiF <sub>6</sub> – 0,1;	19 – 21	10,5 h	Maišoma pastoviai
Plovimas	H <sub>2</sub> O – 200;	19 – 21	30 min	Maišoma pastoviai
	H <sub>2</sub> O – 200	19 – 21	30 min	Maišoma pastoviai
Plikinimas - kalkinimas	H <sub>2</sub> O – 100, Ca(OH) <sub>2</sub> (100 %) – 2,3,	20 – 22	2 h	Maišoma pastoviai
	Na <sub>2</sub> S (60 %) – 2,0;	20 – 22	1 h	Maišoma pastoviai
	Ca(OH) <sub>2</sub> (100 %) – 2,3; H <sub>2</sub> O – 100	20 – 22	22 h	Maišoma 5 min kas 1h
Plovimas	H <sub>2</sub> O – 200;	20 – 22	30 min	Maišoma pastoviai
	H <sub>2</sub> O – 200	30	30 min	Maišoma pastoviai
<b>B dalis</b>				
Nukalkinimas - minkštinimas	H <sub>2</sub> O – 40, (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (100 %) – 2,0;	35 – 37	30 min	Maišoma pastoviai
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (100 %) – 2,0;	35 – 37	1 h	Maišoma pastoviai
	H <sub>2</sub> O – 100, Fermentinis preparatas (FP)	35 – 37	30 min	Maišoma pastoviai
Plovimas	H <sub>2</sub> O – 200;	20	20 min	Maišoma pastoviai
	H <sub>2</sub> O – 200	20	20 min	Maišoma pastoviai
Pikeliaivimas	H <sub>2</sub> O – 40, NaCl (100 %) – 5,5;	18 – 20	15 min	Maišoma pastoviai
	HCOONa (100 %) – 1;	18 – 20	20 min	Maišoma pastoviai
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (98 %) – 0,5;	18 – 20	15 min	Maišoma pastoviai
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (98 %) – 0,5;	18 – 20	15 min	Maišoma pastoviai
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (98 %) – 0,5	18 – 20	15 h	Maišoma pastoviai
Chrominimas (pikelio tirpale)	33 % bazingumo chromo ekstraktas <i>Chromal</i> – 6;	20 – 22	4 – 5 h	Maišoma pastoviai
	<i>Neutragene MG – 120</i> – 0,35 (per 2 kartus 1 h intervalu)	20 – 22	17 h	Maišoma pastoviai

	60 °C H <sub>2</sub> O – 40;	38 – 40	1 h	Maišoma pastoviai
	60 °C H <sub>2</sub> O – 40;	38 – 40	1 h	Maišoma pastoviai
Plovimas	H <sub>2</sub> O – 100;	35	15 min	Maišoma pastoviai
Atsigulėjimas		18-20	24 h	Chromintas pusgaminis ištiesintas ir lygiai išklotas (maišelyje)
<b>C dalis</b>				
Plovimas	H <sub>2</sub> O – 150;	30 – 40	30 min	Maišoma pastoviai
Neutralizacija	H <sub>2</sub> O – 150;	35 – 40	30 min	Maišoma pastoviai
	NaHCO <sub>3</sub> – 1,5; HCOONa – 2,0;	35 – 40	90 min	Maišoma pastoviai
Plovimas	a) H <sub>2</sub> O – 150;	30 – 40	30 min	Maišoma pastoviai
	b) H <sub>2</sub> O – 150;	60	30 min	Maišoma pastoviai
Riebinimas	H <sub>2</sub> O – 200 (70 °C); <i>Oleal 146</i> – 2; <i>Oleal 1946</i> – 4; <i>Fospholiker 661</i> – 3; <i>Fospholiker 6146</i> – 4;	60	90 min	Maišoma pastoviai
	Skrudžių rūgštis (1:10) - 0,5;	60	15 min	Maišoma pastoviai
	Skrudžių rūgštis (1:10) - 0,5;	60	15 min	Maišoma pastoviai
Plovimas	Vanduo – 100;	20	15 min	Maišoma pastoviai
Džiovinimas		20 – 22	72 h	Pusgaminis ištiesintas ir lygiai išklotas

## 2.2 Fermentų aktyvumo nustatymas Ansono metodu

Fermentų aktyvumas nustatytas naudojantis modifikuotu Ansono metodu šarminėms proteazėms (pH 9,5 ± 0,2) [42].

Fermentinio preparato tirpalas ruošiamas 0,1 – 1,0 g tiriamo fermentinio preparato ištirpinus nedideliame kiekyje universalus buferinio tirpalo (0,1 mol/l koncentracijos, pH 9,5).

Natrio kazeinato (2 %) tirpalas (substratas) gaminamas 2 g orausio natrio kazeinato ištirpinus 90 ml universalus buferinio tirpalo (0,1 mol/l, pH 9,5). Reikiamas pH pasiekiamas panaudojus NaOH (1 mol/l) tirpalą. Tirpalas perpilamas į matavimo kolbą (100 ml) ir praskiedžiamas iki žymos universaliu buferiniu tirpalu (0,1 mol/l, pH 9,5). Pagreitinti natrio kazeinato tirpimui tirpalą galima maišyti magnetine maišykle ir pašildyti iki 70 ± 1 °C. Tirpalą galima laikyti 2 dienas šaldytuve.

Fermento ar fermentinio preparato kiekis analizei parenkamas taip, kad susidarytų substrato perteklius, o optinio tankio vertė pamatavus spektrofotometru patektų į 0,2 – 0,6 absorbcinių vienetų intervalą (šarminėms proteazėms).

Tyrimas atliekamas į 2 mėgintuvėlius įpylus po 2 ml substrato ir patalpinus į termostatą ( $30,0 \pm 0,2$  °C). Maždaug po 10 min į kiekvieną mėgintuvėlį įpilama po 2 ml fermento tirpalo, mėgintuvėliai supurtomi ir paliekami hidrolizei 10 min,  $30,0 \pm 0,2$  °C temperatūroje. Po 10 min hidrolizės į abu mėgintuvėlius pridedama po 4 ml trichloracto rūgšties (0,3 mol/l), kad nutraukti fermentinę reakciją ir nusodinti baltymą bei hidrolizės reakcijos produktus. Mišinys greit permaišomas ir visiškai nusėdimui mėgintuvėliai su mišiniu laikomi 30 °C temperatūroje dar 20 min. Tada mėgintuvėlių turinys filtruojamas per mažus piltuvėlius su popieriniu filtru į sausus mėgintuvėlius. Filtratas turi būti visiškai skaidrus.

Kontrolinis bandinys: į 2 ml fermentinio tirpalo (to paties praskiedimo) pridedama 4 ml trichloracto rūgšties, laikoma termostate 30 °C, 10 min, tada pridedama 2 ml substrato. Po 20 min termostate filtruojama.

Kolorimetrinė analizė atlikta spektrofotometre (Spektrofotometras Genesis 8, Spectronic Unicam, JAV) nustatant 280 nm bangos ilgį, 1 cm pločio kiuvetėse.

Gradavimo grafikas sudaromas tirozino ekvivalentui (t.y. optinis tankis, kurį duotų 1 μmol tirozino 1 l standartinio tirpalo). Gradavimo tiesei sudaryti pagaminamas 1 l  $10^{-3}$  mol/l tirozino tirpalas. Tuščias bandinys – 0,2 mol/l HCl tirpalas. Kalibracinei tiesei sudaryti paruošiami 0,02 μmol/l, 0,06 μmol/l, 0,08 μmol/l, 0,10 μmol/l, 0,15 μmol/l, 0,20 μmol/l, 0,30 μmol/l tirozino koncentracijų tirpalai.

Proteolitinis aktyvumas (PA) vnt/g arba vnt/ml apskaičiuojamas pagal (2.1) formulę.

$$PA = \frac{D \cdot 4}{TE \cdot 10m} * 1000 \quad (2.1)$$

čia: D – optinis tankis;

4 – mišinio santykis (fermento : substrato : trichloracto r.);

TE – tirozino ekvivalentas, nustatomas pagal gradavimo grafiką (koeficientas iš lygties);

10 – hidrolizės reakcijos laikas, min;

m – fermentinio preparato kiekis, paimtas proteolizei (mg/ml fermentinio tirpalo);

1000 – pervedimo koeficientas, gautų vienetų vienam g fermentinio preparato.

Galutiniam rezultatui paskaičiuojamas aritmetinis proteolitinio aktyvumo vidurkis (2 paralelių matavimų). Galimas aktyvumo rezultatų pasiskirstymas neturi viršyti 5 % paklaidos.

Rezultatai apvalinami iki 1 skaičiaus po kablelio.

Universalus (0,1 mol/l) buferis gaminamas maišant vienodus acto rūgšties (0,1 mol/l), orto fosforo rūgšties (0,1 mol/l) ir boro rūgšties (0,1 mol/l) kiekius. Gaunamas buferinis tirpalas, kurio pH vertė yra maždaug 1,8. Pridedant skirtingus natrio šarmo (1 mol/l) tirpalo kiekius, gaunami buferiniai tirpalai, kurių pH vertės gali būti nuo 1,8 iki 12.

### **2.3 Kolageninių baltymų analizė**

Kolageninių baltymų kiekis nustatytas pagal hidroksiprolino kiekį, susidariusį po odos apdorojimo tirpaluose esančių baltymų hidrolizės. Hidroksiprolinas yra specifinė kolageno amino rūgštis, o jo kiekis kolagene yra pastovus ir žinomas. Hidroksiprolino kiekis nustatytas pagal modifikuotą Neiman – Logan metodiką [43]. Šis kolorimetrinis metodas pagrįstas spalvoto junginio susidarymu, kai hidroksiprolino oksidacijos produktai reaguoja su p – dimetilaminobenzaldehidu.

Apdorojimo tirpaluose esančių baltymų hidrolizei, imama 5 – 50 ml tiriamojo tirpalo ir išgarinama virš vandens vonios. Likęs sausas likutis 6 mol/l HCl tirpalu kiekybiškai pernešamas į ampulę, kuri užlydoma ir kaitinama 10 h  $125 \pm 2$  °C temperatūroje. Hidrolizatas valomas aktyvuota anglimi 10 – 15 min, filtruojamas ir išgarinamas virš vandens vonios. Sausas likutis kiekybiškai pernešamas distiliuotu vandeniu į 25 ml matavimo kolbą ir skiedžiamas distiliuotu vandeniu iki žymos.

Į du mėgintuvėlius įpilama po 1 ml gauto tirpalo, o į kitus du – po 1 ml distiliuoto vandens. Į visus mėgintuvėlius įpilama po 0,5 ml 0,05 mol/l vario sulfato, 0,5 ml 2,5 mol/l NaOH tirpalo ir 0,2 ml 4 % koncentracijos vandenilio peroksido tirpalo. Mėgintuvėliai 5 min purtomi, 5 min paliekami ramybės būsenoje. Tada 10 min termostatuojami  $70 \pm 1$  °C temperatūros vandens vonioje, retkarčiais supurtant. Išėmus iš vandens vonios mėgintuvėliai atvėsunami, į juos įpilama po 0,5 ml 0,01 mol/l karbamido tirpalo, supurtoma ir paliekama 5 – 10 min stovėti. Tada įpilama po 0,8 ml 4 mol/l sieros rūgšties tirpalo ir po 2,5 ml 5 % koncentracijos p – dimetilaminobenzaldehido tirpalo izopropilo alkoholyje. Mėgintuvėliai 22 min termostatuojami 70 °C temperatūros vandens vonioje, atvėsunami iki 20 °C ir išmatuojama tiriamųjų tirpalų 558 nm monochromatinio spindulio šviesos absorbcija spektrofotometru. Gradavimo kreivei nubraižyti naudoti 0,0005 – 0,003 % koncentracijos hidroksiprolino tirpalai.

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

### **2.4 Suvirimo temperatūros iki 100 °C nustatymas**

Suvirimo temperatūra buvo nustatoma po plikavimo – kalkinimo, nukalkinimo – minkštinimo bei pikeliavimo procesų remiantis standartine procedūra [44]. Procedūros principas – į vandenį panardinamas bandinys, kuris kaitinamas nustatytu greičiu, kol staiga susitraukia.



Iš kiekvieno odos bandinio gabalėlio paruošiami trys lygiagretūs ėminiai – išpjunami stačiakampio formos  $50 \text{ mm} \pm 2 \text{ mm} \times 3,0 \text{ mm} \pm 0,2 \text{ mm}$  bandiniai.

Indas, pritaikytas kaitinti užpildomas distiliuotu ar dejonizuotu vandeniu, kad bandinio viršus būtų apsemtas ne mažiau kaip 30 mm. Indas pastatomas ant kaitintuvo, pajėgaus vandens indą kaitinti  $2 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  sparta.

Kas 30 s užrašoma temperatūros vertė ir ją atitinkantis rodyklės padėties rodmuo (naudotas elektroninis prietaisas). Stebėjimai tęsiami, kol bandinys pastebimai susitraukia arba vanduo stipriai verda, arba kol pasiekama reikalinga temperatūra. Jei bandymas vyksta verdant vandeniui, tada fiksuojama tik temperatūra.

Patikrinami rezultatai ir surandama temperatūros vertė, atitinkanti rodyklės poslinkį, kuris yra ekvivalentiškas 0,3 % bandinio susitraukties, skaičiuojant pagal didžiausią jo ilgį. Ši temperatūra fiksuojama kaip suvirimo temperatūra.

### **2.5 Suvirimo temperatūros virš 100 °C nustatymas**

Chrominto pusgaminio suvirimo temperatūra nustatyta naudojant specialią įrangą bei glicerolį vietoje distiliuoto vandens [42]. Šis metodas naudojamas todėl, kad odos suvirimo temperatūra po chrominimo yra didesnė nei 100 °C. Bandiniai paruošiami iš kiekvieno tirtos odos gabalėlio išpjauant po 3 lygiagrečias juosteles, kurių matmenys  $60 \text{ mm} \pm 2 \text{ mm} \times 3,0 \text{ mm} \pm 0,2 \text{ mm}$ . Bandiniai įtvirtinami prietaise, o prietaisas pritvirtinamas taip, kad juostelės būtų apsemtos gliceroliu. Glicerolis kaitinamas  $2 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  sparta.

Kai bandinio juostelė susitraukia (suverda) atitinkamas kontaktas atsijungia ir lemputė užgęsta. Tuo metu rodoma temperatūra yra laikoma suvirimo temperatūra. Suvirimo temperatūra kiekvienam bandiniui matuota 3 kartus (naudotos 3 juostelės iš vieno odos bandinio). Rezultatuose pateikiamas vieno bandinio visų trijų matavimų aritmetinis vidurkis.

### **2.6 Odos akytumo nustatymas**

Odos akytumas nustatytas po minkštinimo, pikeliavimo bei chrominimo procesų. Akytumo nustatymui bandinys turi būti specialiai paruošiamas – jo struktūra turi būti užfiksuojama acetonu, nes odos derma labai pasikeičia džiūdama, tačiau bandinio struktūra išlaikoma nepakitusi, jei džiovininti naudojami organiniai tirpikliai: etilo alkoholis arba acetonas. Odos gabalėliai po minkštinimo proceso įmerkiami į 4 kartus didesnę acetono kiekį, taip, kad būtų visiškai apsemti ir laikomi 3 paras eksikatoriuje. Kas 24 valandas acetonas pakeičiamas nauju. Po 3 parų gabalėliai ištraukiami iš eksikatoriaus, ištiesiami ir acetonas išgarinamas esant kambario temperatūrai, traukos spintoje (trunka maždaug 3 – 4 valandas). Kai odos gabalėliai yra visiškai sausi (neskleidžia acetono kvapo), jie supjaustomi  $4,0 \times$

4,0 cm dydžio gabalėliais (po tris gabalėlius iš vieno odos bandinio), išmatuojamas gabalėlių storis ir paskaičiuojamas tūris. Taip paruošti odos gabalėliai dedami į eksikatorių su kalio bichromatu parai laiko.

Akytumui nustatyti imama po vieną odos gabalėlį iš eksikatoriaus. Bandinys pasveriamas analitinėmis svarstyklėmis, dedamas į stiklinėlę plačiu dugnu ir užpilamas žibalu taip, kad žibalo aukštis stiklinėlėje būtų 3 kartus aukštesnis nei ištiesto ant stiklinėlės dugno odos bandinio aukštis. Paruošta stiklinėlė įstatoma į eksikatorių, kuriame galima sudaryti vakuumą. Tada sudaromas vakuumas ir laikoma 5 minutes. Ištrauktas iš žibalo odos gabalėlis skubiai švelniai nusausinamas filtriniu popieriumi (nespaudžiant) ir iš karto pasveriamas. Gautas masių skirtumas yra lygus žibalo masei, kuri esant vakuumui įsiskverbė į odos poras. Naudojant bandinio tūrį ir žibalo tankį ( $0,794 \text{ g/cm}^3$ ) paskaičiuojamas vidutinis odos poringumas išreikštas procentais [5].

### 2.7 Cr (III) oksido kiekio tirpale nustatymas

$\text{Cr}_2\text{O}_3$  kiekis chrominimo tirpaluose nustatomas titrimetriniu metodu [42].

Bandiniui paruošti naudojamos dvi kūginės 250 ml kolbos. Į jas įpilama po 5 ml tiriamo tirpalo, 10 ml 1M NaOH tirpalo ir 4 ml 4 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  tirpalo. Kolbos pastatomos ant elektrinės plytelės ir tirpalai virinami 3 min. Nuėmus mėginius nuo plytelės į kiekvieną kolbą įpilama po 5 ml 5 %  $\text{NiSO}_4$  tirpalo ir virinama dar 3 min. Baigus virinti kolbų turinys atvėsinaamas, įpilama 20 % koncentruoto  $\text{H}_2\text{SO}_4$  tirpalo tiek, kad nuosėdos visiškai ištirtų. Įpylus 5 ml 10 % KI tirpalo kolbos uždengiamos, palaukiama dar 1 – 2 min. Bandiniai titruojami 0,1 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  tirpalu, naudojant 1 % krakmolo tirpalą kaip indikatorius.

$\text{Cr}_2\text{O}_3$  kiekis (g/l) tirpale apskaičiuojamas pagal (2.2) formulę.

$$Cr_2O_3 = \frac{a \cdot 0,002533 \cdot 1000}{V} \quad (2.2)$$

čia: a – sunaudoto titruoti  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  tirpalo kiekis, ml;

V – paimto analizei tirpalo kiekis, ml;

0,002533 –  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  kiekis (g) atitinkantis 1 ml 0,1 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  tirpalo

### 2.8 Cr (III) oksido kiekio odoje nustatymas

Trivalenčio chromo oksido kiekio odoje nustatymas atliekamas pagal [45] metodiką. Bandinio paruošimas atliekamas tik traukos spintoje. Bandinys paruošiamas tiksliai pasvėrus (užrašoma kaip  $m_0$ ) po 0,5-0,6 g odos. Pasverta oda sudedama į kūginę kaitinti tinkamas kolbas (500 ml talpos). Paruošiamos dvi tokios kolbos vienam bandiniui. Į jas supilama po 10 ml koncentruotos azoto rūgšties (~ 70 %) ir paliekama stovėti 4 – 5 min. Supilama 15 ml koncentruotų sieros (~ 96 %) ir perchlorato

(60 – 70 %) rūgščių mišinio ir kolbos uždengtos piltuvėliais statomos ant kaitinimo plytelės. Kaitinama vidutiniškai kaitriai kol reakcijos mišinio spalva pasikeičia iš žalsvos į oranžinę.

Po to kaitra šiek tiek sumažinama ir kaitinama dar mažiausiai 2 min. Kolbos nuimamos nuo plytelės ir vėsinaamos oro sąlygomis apie 10 min. Tada į kolbas įpilama apie 200 ml distiliuoto vandens ir jos vėl dedamos ant kaitinimo plytelės. Kaitinama kol užverda ir leidžiama švelniai virti apie 10 min kol iš tirpalų pasišalina visas susidaręs chloras. Kolbos atvėsinaamos po šalto vandens srove ir įpilama 5 ml ortofosfato rūgšties (~ 90 %) geležies jonams maskuoti.

Analizuojama jodometriškai. Į kolbas įpilama 20 ml kalio jodido tirpalo (100 g/l), kolba uždengiama piltuvėliu ir paliekama stovėti tamsoje 10 min.

Titruojama 0,1 mol/l koncentracijos natrio tiosulfato tirpalu tol, kol kolboje esančio tirpalo spalva tampa šviesiai žalsva. Kaip indikatorius naudojamas 1% koncentracijos krakmolo tirpalas.

Užrašomas titravimui sunaudoto 0,1 mol/l koncentracijos natrio tiosulfato kiekis (ml) –  $V$ .

$\text{Cr}_2\text{O}_3$  kiekis (%) apskaičiuojamas pagal (2.3) formulę.

$$\text{Cr}_2\text{O}_3 = V \times 0,00253 \times 100 \times F / m_0 (\%) \quad (2.3)$$

čia  $V$  – titravimui sunaudoto 0,1 mol/l koncentracijos natrio tiosulfato kiekis, ml;

0,00253 –  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  kiekis atitinkantis 1 ml 0,1 mol/l koncentracijos natrio tiosulfato tirpalo, g/ml;

## **2.9 Išdirbtos odos kokybiniai rodikliai**

### **2.9.1 Drėgnio nustatymas**

Metodo principas – odoje esantys lakieji junginiai išgaruoja džiovinant odą džiovinimo spintoje  $102 \pm 2$  °C temperatūroje [46]. Drėgnio nustatymui 3 g odos bandinio susmulkinti mažais  $3,0 \times 3,0$  mm dydžio gabalėliais, pasverti analitinėmis svarstyklėmis ir sudėti į biuksus (kurių absoliučiai sauso biukso masė yra žinoma). Paruošiami du lygiagretūs odos bandiniai. Atidengti biuksai su oda kaitinami  $102 \pm 2$  °C temperatūroje 2 valandas, tada 30 min vėsinaami eksikatoriuje ir pasveriami. Džiovinimo, vėsavimo ir svėrimo operacijos kartojamos kas 1 valandą, kol paskutinio svėrimo masė sumažėja ne daugiau kaip 3 mg (0,1 % bandinio masės). Įvertinus absoliučiai sauso biukso svorį, odos masę prieš ir po džiovinimo paskaičiuojamas drėgmės kiekis odoje (%) pagal (2.4) formulę.

$$w = \frac{100(m_1 - m_2)}{m_1}, \% \quad (2.4)$$

čia:  $m_1$  – bandinio masė prieš džiovinimą, g;

$m_2$  – bandinio masė po džiovinimo, g.

### 2.9.2 Dichlormetane tirpių medžiagų kiekio nustatymas

Metodo principas – paruošta oda ekstrahuojama dichlormetanu, kuris vėliau išgarinamas iš ekstrakto (džiovinamas 102 °C temperatūroje) [47]. Kiekvienam bandiniui paruošiami du lygiagretūs bandiniai.

Oda susmulkinama, tiksliai pasveriami analitinėmis svarstyklėmis (po 4 – 5 g), suspaudžiama į filtravimo popieriaus tūtą ir uždengiama. Ekstrakcija vykdoma naudojant Soksleto ekstraktorių. Paruošta filtravimo popieriaus gilzė su odos bandiniu dedama į ekstrakcijos aparatą ir pradedamas nepertraukiamas ekstrahavimas dichlormetanu. Baigus ekstrakciją ekstraktas džiovinamas džiovinimo spintoje 102 ± 2 °C temperatūroje 4 valandas, tada 30 min vėsinama eksikatoriuje ir pasveriami. Džiovinimo, vėsimo ir svėrimo operacijos kartojamos kas 1 valandą, kol paskutinio svėrimo masė sumažėja ne daugiau kaip 0,01 g.

Dichlormetanu ekstrahuojamoji medžiaga, išreikšta sausosios medžiagos masės procentais, apskaičiuojama pagal (2.5) formulę.

$$\frac{m_1}{m_0} \times 100 \times F \quad (2.5)$$

čia:  $m_0$  – bandinio masė gramais;

$m_1$  – ekstrakto masė gramais;

F apskaičiuojama pagal (2.6) formulę

$$F = \frac{100}{100-w} \quad (2.6)$$

čia: w – lakiosios medžiagos (pagal ISO 4684) masės dalis procentais.

### 2.9.3 Fizikinių odos savybių nustatymas

Standartinis odos storio nustatymo metodas taikomas visų tipų bet kokio išdirbimo odoms [48]. Metodo principas – oda dedama į matuoklį po nurodyta apkrova, nurodytam laikui ir tiesiogiai nuskaityta storio vertė. Atliekami 5 matavimai skirtinguose bandinio taškuose. Matavimų rezultatų aritmetinis vidurkis išreiškiamas 0,01 mm tikslumu.

Tempiamasis stipris ir santykinė ištįsa pasiekus numatytą įtempį nustatyta pagal standartą [49]. Metodo principas – bandinys yra tempiamas nustatytu greičiu tol, kol pasiekiamas numatyto dydžio įtempis ar kol bandinys nutrūksta. Metodas gali būti taikomas visų tipų išdirbtoms odoms. Iš vieno bandinio gabalėlio iškertami 6 bandiniai: 3 bandiniai, kurių ilgesnis kraštas lygiagretus su stuburo linija ir trys bandiniai, kurių ilgesnis kraštas statmenas stuburo linijai. Išmatuojamas bandinio storis kaip nurodyta standarte. Bandiniai laikomi eksikatoriuje su kalio bichromatu 24 h.

Tempiamasis stipris nustatomas bandinį įtvirtinus gnybtuose ir paleidus mašiną – bandinys tempiamas tol, kol nutrūksta, o tuomet pasiekta didžiausia įtempio jėga užrašoma kaip trūkio jėga.

Santykinė ištįsa, pasiekus numatytą įtempį nustatoma kai įtempis pasiekia numatytą dydį – pažymimas atstumas tarp nutolusių gnybtų ar jutiklių poros. Šis atstumas užrašomas kaip bandinio ilgis, esant šiam įtempiai.

Tempiamasis stipris niutonais kvadratiniam milimetrui, apskaičiuojamas pagal (2.7) formulę.

$$T_n = \frac{F}{w \cdot t} \quad (2.7)$$

čia: F – trūkio jėga niutonais;

w – vidutinis bandinio plotis, mm;

t – vidutinis bandinio storis, mm.

Santykinė ištįsa pasiekus nustatytą įtempį  $E_1$  apskaičiuojama pagal (2.8) formulę.

$$E_1 = \frac{L_1 - L_0}{L_0} \times 100 \quad (2.8)$$

čia:  $L_1$  – atstumas tarp nutolusių gnybtų ar jutiklių pasiekus nustatytą įtempį, mm;

$L_0$  – pradinis atstumas tarp gnybtų ar jutiklių, mm.

## 2.10 Infraraudonoji spektroskopija

Odos bandinių struktūros pokyčiai nustatyti infraraudonosios (IR) spektroskopijos analizės metu. Odos bandiniai šiai analizei paruošiami taip, kaip ruošiami bandiniai akytumo nustatymui. IR absorbcijos spektrai gauti naudojant Perkin-Elmer FTIR Spectrum GX (JAV) spektrofotometrą naudojant KBr tabletes. Tabletės suformuotos naudojant odos bandinius po fiksacijos acetonu. Paruošti bandiniai perpjauti perpus (pašalinamas viršutinis odos sluoksniu), tada pagremžus atvertą odos paviršių surinkti odos milteliai, kurie naudoti tabletėms ruošti.

Programoje „Spectrum 5.0.1“ analizei pasirinkti parametrai: skiriamoji geba  $1 \text{ cm}^{-1}$ , skenavimo greitis  $0,2 \text{ cm/s}$ , skenavimų skaičius – 16 kartų. Naudojant tą pačią programą apdoroti spektrai ir paskaičiuoti smailių plotai spektruose  $\Delta S (\text{T}\% \cdot \text{cm}^{-1})$ .

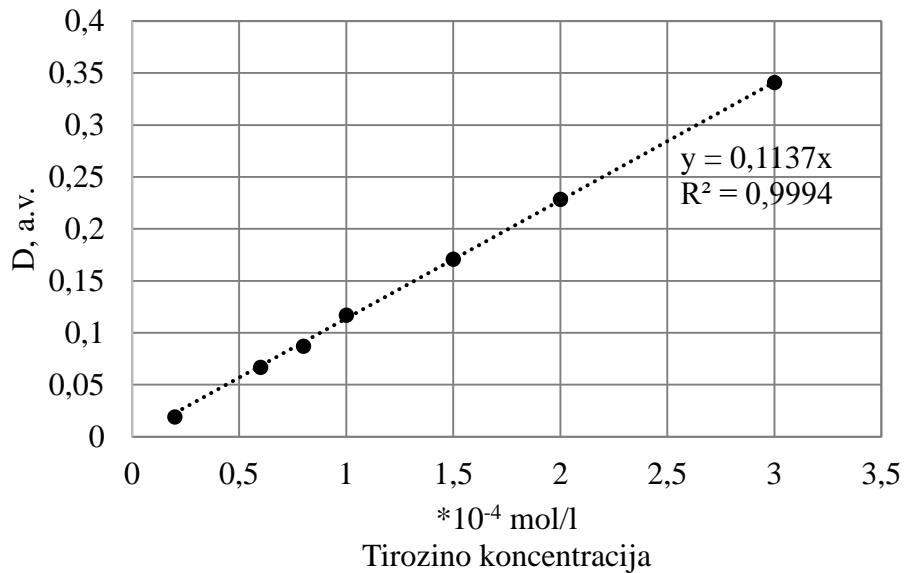
## 2.11 Statistinė analizė

Nustatant fermentų aktyvumą, kolageninių baltymų kiekį, suvirimo temperatūrą, odos akytumą ir trivalenčio chromo oksido kiekį matavimai kartoti 3 kartus. Nustatant drėgnį, dichlormetane tirpių medžiagų kiekį, odos storį bei mechanines savybes, matavimai atlikti kaip numatyta standartuose. Rezultatai pateikti kaip visų matavimų vidurkis. Rezultatų standartinis nuokrypis neviršiojo 5 %.

### 3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

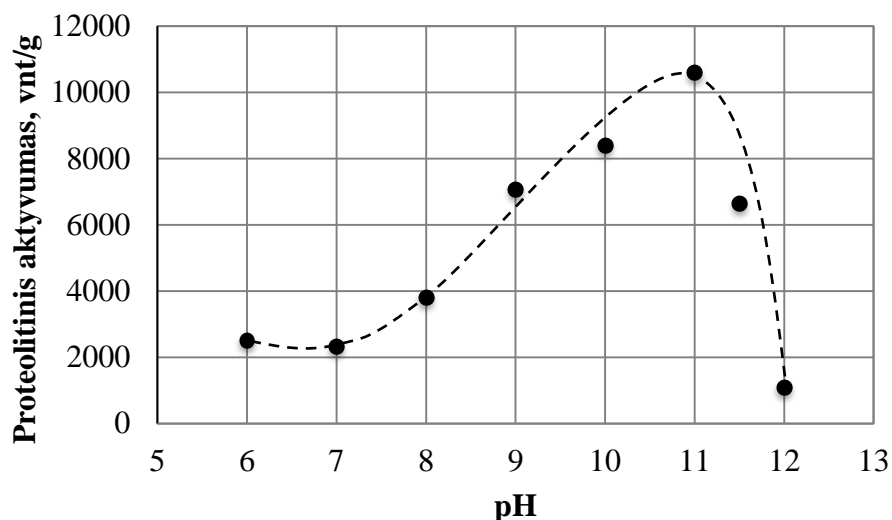
#### 3.1 Fermentinių preparatų aktyvumas

Tyrimams buvo naudoti du fermentiniai preparatai (FP): Codeymac 5.0 M (pramonėje naudojamas FP) ir Vilzim Pro Alk. Pirmiausia buvo nustatytas ir palygintas abiejų FP proteolitinis aktyvumas naudojantis modifikuotu Ansono metodu šarminėms proteazėms (pH  $9,5 \pm 0,2$ ). Sudaryta gradavimo tiesė (3.1 pav.) tirozino ekvivalentui (tiesės lygtis  $y = 0,1137x$ ,  $R^2 = 0,9994$ ).



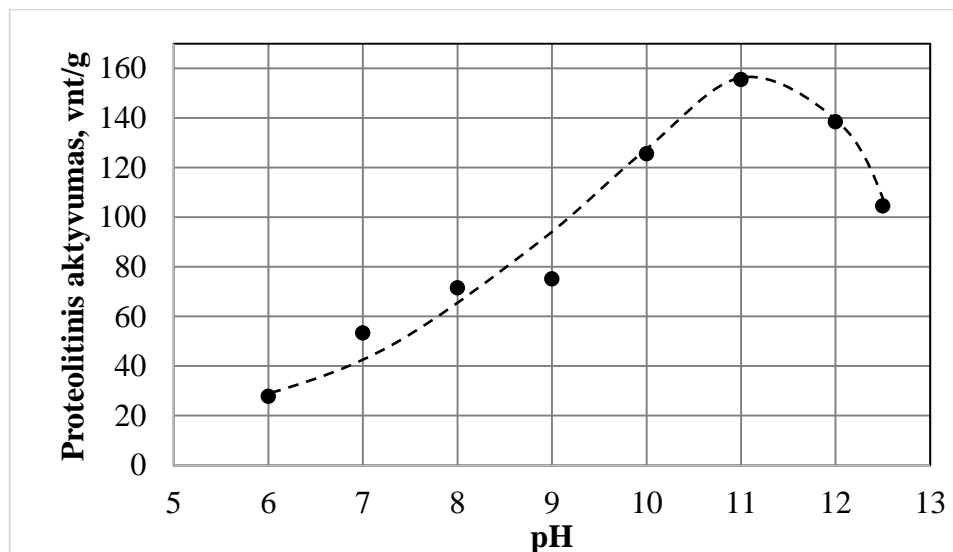
**3.1 pav.** Gradavimo tiesė tirozino ekvivalentui.

Nustačius proteolitinį aktyvumą tirtiems fermentiniams preparatams gauti rezultatai pateikti 3.2 ir 3.3 paveiksluose. Išanalizavus gautus rezultatus nustatyta, kad FP Vilzim Pro Alk pasižymėjo vidutiniškai 60 kartų intensyvesniu proteolitiniu aktyvumu nei FP Codeymac 5.0 M, o esant pH 9 netgi 95 kartus didesniu aktyvumu.



3.2 pav. FP Vilzim Pro Alk proteolitinis aktyvumas 30 °C temperatūroje.

Taip pat nustatyta, kad fermentų aktyvumas labai priklauso nuo terpės pH. pH intervale nuo 6 iki 11 proteolitinis aktyvumas didėjo atitinkamai didėjant pH vertei. Abu FP buvo aktyviausi esant pH 11. pH didinant toliau abiejų fermentų proteolitinis aktyvumas mažėjo.



3.3 pav. FP Codeymac 5.0 M proteolitinis aktyvumas 30 °C temperatūroje.

### 3.2 Fermentinių preparatų poveikis odai minkštinant

Siekiant nustatyti fermentinių preparatų poveikį odai, atsižvelgus į gautus proteolitinio aktyvumo rezultatus odos išdirbimui parinkti tokie fermentų kiekiai (procentais nuo plikės masės): 0,05

% FP Codeymac 5.0 M ir 0,005 % FP Vilzim Pro Alk. Oda apdorota pagal įprastinę chrominto pusgaminių išdirbimo metodiką iki pikeliavimo proceso. Bandymui pasirinkti odos bandiniai iš krupono dalies bei šonų (po du gabalėlius kiekvienam bandymo variantui). Visi odos bandiniai iki nukalkinimo – minkštinimo proceso, buvo apdoroti kartu. Po to bandiniai buvo išskirstyti į tris dalis nukalkinimui ir minkštinimui atlikti. Pirmoji bandinių dalis apdorota be fermento; antrajai dėta FP Codeymac 5.0 M, o trečiajai – tiriamojo FP (Vilzim Pro Alk). Odos suvirimo temperatūra nustatyta po nukalkinimo ir minkštinimo proceso. Taip pat surinkti minkštinimo proceso tirpalai bei nustatytas juose po proceso rastas kolageninių baltymų kiekis.

**3.1 lentelė.** Odos bandinių suvirimo temperatūra po nukalkinimo – minkštinimo proceso.

Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.	Suvirimo temperatūra, °C	
	Kruponas	Šonas
Be FP	61,7 ± 0,6	56,8 ± 0,6
FP Codeymac 5.0 M, 0,05	61,3 ± 0,6	58,2 ± 0,6
FP Vilzim Pro Alk, 0,005	61,0 ± 0,6	59,0 ± 0,6

Nustačius odos suvirimo temperatūrą gauti rezultatai, kurie pateikti 3.1 lentelėje. Pastebėta, kad suvirimo temperatūra priklauso nuo bandinio vietos – kruponinės dalies bandinių suvirimo temperatūra buvo aukštesnė nei šoninės dalies bandinių. Taip pat pastebėta, kad be FP apdorotų odos gabalėlių suvirimo temperatūra kruponinėje ir šoninėje dalyse skyrėsi labiau, nei tų, kurie buvo apdoroti FP. Suvirimo temperatūrai įtakos turi mikrostruktūros išskirstymas ir išpurenimas. Tai galėjo lemti žemesnę FP apdorotų bandinių suvirimo temperatūrą, nes kuo labiau išpurenata mikrostruktūra, tuo žemesnė suvirimo temperatūra.

**3.2 lentelė.** Kolageninių baltymų kiekis nukalkinimo – minkštinimo tirpaluose po proceso.

Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.	Be FP	FP Codeymac 5.0 M, 0,05	FP Vilzim Pro Alk, 0,005
Kolageninių baltymų kiekis, g/kg plikės	0,04	0,18	0,22

Vienas iš minkštinimo proceso vertinimo būdų yra baltyminių medžiagų kiekio minkštinimo tirpale nustatymas [5]. 3.2 lentelėje pateikti rezultatai, gauti nustačius kolageninių baltymų kiekį po proceso nukalkinimo ir minkštinimo tirpaluose. Iš pateiktų rezultatų matyti, kad veikiant fermentiniams preparatams iš odos buvo pašalinta žymiai daugiau kolageninių baltymų – oda buvo stipriau



paveikta. Šiuos rezultatus patvirtina ir suvirimo temperatūros tyrimas. Po nukalkinimo ir minkštinimo naudojant FP Codeymac 5.0 M, tirpale nustatytas šiek tiek mažesnis kolageninių baltymų kiekis nei tirpale po apdoravimo su FP Vilzim Pro Alk. Tai reiškia, kad pasirinktas odai apdoroti tiriamojo FP kiekis yra per didelis.

Siekiant nustatyti tinkamą FP Vilzim Pro Alk kiekį odai minkštinti atliktas dar vienas analogiškas bandymas, kuriame naudoti mažesni šio FP kiekiai: 0,004 % ir 0,002 % nuo plikės masės. Kontrolei naudotas FP Codeymac 5.0 M. Bandymui naudoti išpjauti iš krupono ir šoninės dalies odos bandiniai. Visi bandiniai apdoroti pagal įprastinę chrominto pusgaminio išdirbimo metodiką iki pikeliavimo proceso. Bandymo metu nustatyta odos suvirimo temperatūra ir kolageninių baltymų kiekis nukalkinimo ir minkštinimo tirpaluose po proceso (3.3 lentelė).

**3.3 lentelė.** Bandinių suvirimo temperatūra po nukalkinimo ir minkštinimo proceso.

Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.	Suvirimo temperatūra, °C	
	Krupono dalies	Šonų dalies
FP Codeymac 5.0 M, 0,05	60,3 ± 0,6	57,3 ± 0,6
FP Vilzim Pro Alk, 0,004	62,0 ± 0,6	57,3 ± 0,6
FP Vilzim Pro Alk, 0,002	60,7 ± 0,6	59,0 ± 0,6

Išanalizavus 3.3 lentelėje pateiktus duomenis matomi artimi rezultatai bandiniams, kurie apdoroti FP Codeymac 5.0 M (0,05 % nuo p.m.) ir FP Vilzim Pro Alk (0,004 % nuo p.m.), išpjautiems iš šonų dalies, tačiau kruponinės dalies bandinių suvirimo temperatūra yra artimesnė kai jie apdoroti FP Codeymac 5.0 M (0,05 % p.m.) ir FP Vilzim Pro Alk (0,002 % p.m.) tirpalais.

**3.4 lentelė.** Kolageninių baltymų kiekis tirpaluose po nukalkinimo ir minkštinimo proceso.

Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.	FP Codeymac 5.0 M, 0,05	FP Vilzim Pro Alk, 0,004	FP Vilzim Pro Alk, 0,002
Kolageninių baltymų kiekis, g/kg plikės	0,18	0,11	0,10

Nustačius kolageninių baltymų kiekį tirpaluose po proceso (3.4 lentelė) gauta, kad naudojant FP Vilzim Pro Alk (0,004 % nuo p.m.) ir FP Vilzim Pro Alk (0,002 % nuo p.m.) suardyta beveik tiek pat kolageninių baltymų, ir tai yra ženkliai mažiau, nei naudojant FP Codeymac 5.0 M (0,05 % nuo p.m.). Tolimesniems tyrimams paliktas apdoravimo FP Vilzim Pro Alk, dedant jo 0,004 % p.m., variantas.

Tolesniems bandymams naudoti odos bandiniai tik iš kruponinės dalies. Bandiniai apdoroti pagal įprastinę chrominto pusgaminio išdirbimo metodiką iki pikeliavimo proceso. Iki minkštinimo proceso visi bandiniai apdoroti kartu. Bandymo metu nustatyta plikės suvirimo temperatūra, akytumas bei kolageninių baltymų kiekis tirpale.

**3.5 lentelė.** Plikės suvirimo temperatūra po nukalkinimo ir minkštinimo proceso.

<b>Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.</b>	<b>Suvirimo temperatūra, °C</b>
Be FP	63,0 ± 0,6
FP Codeymac 5.0 M, 0,05	62,3 ± 0,6
FP Vilzim Pro Alk, 0,004	62,0 ± 0,6

Plikės suvirimo temperatūra (3.5 lentelė) po nukalkinimo ir minkštinimo proceso buvo aukštesnė bandinio, kuris apdorotas be FP. Fermentiniais preparatais apdorotų bandinių suvirimo temperatūra labai artima.

**3.6 lentelė.** Kolageninių baltymų kiekis tirpaluose po nukalkinimo ir minkštinimo proceso.

<b>Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.</b>	Be FP	FP Codeymac 5.0 M, 0,05	FP Vilzim Pro Alk, 0,004
<b>Kolageninių baltymų kiekis, g/kg plikės</b>	0,04	0,11	0,13

Nustačius kolageninių baltymų kiekį po proceso nukalkinimo ir minkštinimo tirpaluose gauti duomenys pateikti 3.6 lentelėje. Akivaizdu, kad odą apdorojus be FP iš odos pasišalino žymiai mažesnis kolageninių baltymų kiekis, nei iš bandinių, apdorotų FP. Antra vertus, abu FP suardė panašų kiekį kolageninių baltymų.

**3.7 lentelė.** Bandinių akytumas po nukalkinimo ir minkštinimo proceso.

<b>Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.</b>	Be FP	FP Codeymac 5.0 M, 0,05	FP Vilzim Pro Alk, 0,004
<b>Akytumas, %</b>	63,3	64,4	63,8

Akytumo rezultatai po nukalkinimo ir minkštinimo proceso pateikti 3.7 lentelėje. Gautos labai panašios akytumo vertės. Matoma, kad FP apdoroti bandinių struktūra pasižymėjo tik šiek tiek didesniu akytumu nei bandinys, kuris buvo apdorotas be FP (63,3 %). Didžiausias akytumas nustatytas bandiniui, kuris apdorotas FP Codeymac 5.0 M, 0,05 % p.m (64,4 %).

Apibendrinant šiuos ir anksčiau gautus rezultatus galima teigti, kad dedant minkštinimui FP Vilzim Pro Alk 0,004 % p.m., gaunamas poveikis yra artimas pramonėje naudojamo FP Codeymac 5.0 M poveikiui, kai pastarojo minkštinimui dedama, tiek kiek rekomenduoja įprasta išdirbimo technologija.

### 3.3 Minkštinimo įtaka pikeliavimui ir pikeliuotos plikės savybėms

Pikeliavimo eigos priklausomybei nuo minkštinimo nustatyti buvo parinkti 4 minkštinimo variantai:

1. Be FP;
2. FP Codeymac 5.0 M 0,005 % p.m.;
3. FP Vilzim Pro Alk 0,004 % p.m.;
4. FP Vilzim Pro Alk 0,005 % p.m.

Bandymams naudoti bandiniai tik iš kruponinės dalies. Bandiniai apdoroti pagal įprastinę chrominto pusgaminio išdirbimo metodiką iki pikeliavimo proceso. Iki minkštinimo proceso visi bandiniai apdoroti kartu. Po to bandiniai buvo išskirstyti į keturias dalis ir nukalkinimo – minkštinimo proceso metu apdoroti atskirai. Nustatytas kolageninių baltymų kiekis po proceso surinktuose tirpaluose. Pikeliavimui atlikti buvo naudoti tik du odos bandiniai: apdoroti FP Codeymac 5.0 M (0,05 % p.m.) ir FP Vilzim Pro Alk (0,004 % p.m.). Atlikus pikeliavimą nustatyta bandinių suvirimo temperatūra, kolageninių baltymų kiekis po pikeliavimo surinktuose tirpaluose ir bandinių akytumas.

**3.8 lentelė.** Kolageninių baltymų kiekis tirpaluose, surinktuose po nukalkinimo ir minkštinimo bei pikeliavimo procesų.

Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.	Kolageninių baltymų kiekis, g/kg plikės	
	Po nukalkinimo ir minkštinimo	Po pikeliavimo
Be FP	0,05	-
FP Codeymac 5.0 M, 0,05	0,21	0,05
FP Vilzim Pro Alk, 0,004	0,23	0,05
FP Vilzim Pro Alk, 0,005	0,25	-

--nenustatyta.

Nustačius kolageninių baltymų kiekį po procesų surinktuose tirpaluose (3.8 lentelė) nustatyta kad po nukalkinimo ir minkštinimo tirpaluose buvo žymiai daugiau kolageninių baltymų nei po pikeliavimo surinktuose tirpaluose. Po nukalkinimo ir minkštinimo kolageninių baltymų kiekis be FP apdoroto bandinio tirpale siekė tik 0,05 g/kg plikės, o apdorotame FP Codeymac 5.0 M (0,05 % p.m.)

net 4 kartus daugiau – 0,021 g/kg plikės. FP Vilzim Pro Alk (0,004 % p.m.) tirpale nustatytas kolageninių baltymų kiekis artimesnis apdoravimo FP Codeymac 5.0 M tirpale nustatytam kolageninių baltymų kiekiui. Dedant 0,005 % p.m. FP Vilzim Pro Alk rasta daugiau kolageninių baltymų – 0,25 g/kg plikės. Po pikeliavimo surinktuose tirpaluose kolageninių baltymų kiekis tiek bandinį apdorojus FP Codeymac 5.0 M (0,05 % p.m.), tiek FP Vilzim Pro Alk (0,004 % p.m.) buvo vienodas (0,05 g/kg plikės).

**3.9 lentelė.** Bandinių suvirimo temperatūros po pikeliavimo priklausomybė nuo naudoto minkštinti fermentinio preparato.

<b>Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.</b>	<b>Suvirimo temperatūra, °C</b>
FP Codeymac 5.0 M, 0,05	49,7 ± 0,6
FP Vilzim Pro Alk, 0,004	50,3 ± 0,6

3.9 lentelėje pateikta bandinių suvirimo temperatūra po pikeliavimo proceso. Gautas suvirimo temperatūros yra labai artimos. Šiek tiek aukštesnė suvirimo temperatūra nustatyta odos bandiniui, kuris buvo apdorotas FP Vilzim Pro Alk (0,004 % p.m.), ji siekė 50,3 ± 0,6 °C.

**3.10 lentelė.** Bandinių akytumo po pikeliavimo priklausomybė nuo naudoto minkštinti fermentinio preparato.

<b>Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.</b>	FP Codeymac 5.0 M, 0,05	FP Vilzim Pro Alk, 0,004
<b>Akytumas, %</b>	45,9	54,5

Nustačius bandinių akytumą po pikeliavimo proceso (3.10 lentelė) nustatyta, kad žymiai puresnis buvo bandinys, kuris apdorotas FP Vilzim Pro Alk (0,004 % p.m.), jo akytumas buvo beveik 10 % didesnis, nei apdoroto FP Codeymac 5.0 M (0,05 % p.m.).

Apibendrinant pikeliavimo tyrimo rezultatus galima teigti, kad abiem fermentiniais preparatais (FP Vilzim Pro Alk – 0,004 % p.m. bei FP Codeymac 5.0 M – 0,05 % p.m.) apdoroti bandiniai pasižymėjo panašiomis suvirimo temperatūromis ir vienodu pašalintu kolageninių baltymų kiekiu. Pirmuoju FP minkštinto bandinio didesnis akytumas vis tik liudija apie stipresnę poveikį šio proceso metu.

### 3.4 Chrominimo ir chrominto pusgaminių analizė

Siekiant nustatyti minkštinimo įtaką šikšnai, iš minkštintos ir pikeliuotos plikės buvo išdirbamas chromintas pusgaminis. Pasirinkti tokie patys minkštinimo būdai ir FP kiekiai kaip ir prieš tai buvusiam eksperimente (nededant FP; Codeymac 5.0 M (0,05 % p.m.); FP Vilzim Pro Alk (0,004 % p.m.)). Bandyams naudoti bandiniai tik iš kruponinės dalies. Bandiniai apdoroti pagal įprastinę chrominto pusgaminių išdirbimo metodiką įskaitant ir chrominimą (žr. Metodinė dalis, 2.3 lentelė). Iki minkštinimo proceso visi bandiniai apdoroti kartu. Po to bandiniai buvo išskirstyti į tris dalis ir toliau apdorojami atskirai. Eksperimento metu nustatyta suvirimo temperatūra po nukalkinimo ir minkštinimo proceso, chrominto pusgaminių suvirimo temperatūra, akytumas, drėgmės kiekis odoje, Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> kiekis odoje bei chrominimo tirpale po proceso.

**3.11 lentelė.** Bandinių suvirimo temperatūros priklausomybė nuo naudoto minkštinti FP.

<b>Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.</b>	<b>Suvirimo temperatūra, °C</b>	
	Po nukalkinimo ir minkštinimo	Po chrominimo
<b>Be FP</b>	63,0 ± 0,6	106,0 ± 0,6
<b>FP Codeymac 5.0 M, 0,05</b>	63,0 ± 0,6	105,0 ± 0,6
<b>FP Vilzim Pro Alk, 0,004</b>	63,0 ± 0,6	104,7 ± 0,6

Iš 3.11 lentelėje pateiktų rezultatų matyti, kad chrominimo procesas akivaizdžiai keičia odos struktūrą. Po nukalkinimo ir minkštinimo visų bandinių suvirimo temperatūra buvo vienoda (neišskiriant ir neminkštinto bandinio). Tačiau po chrominimo proceso odos bandinių suvirimo temperatūros buvo skirtingos. Apskritai, visi bandiniai po chrominimo proceso pasižymėjo geru termostabilumu – visų bandinių suvirimo temperatūra buvo didesnė nei 100 °C. Tokią aukštą suvirimo temperatūrą lemia chrominimo metu susidarę tarpmolekuliniai skersiniai ryšiai (valentiniais ryšiais susiūtos baltymo – COOH grupės). Susidarius naujiems skersiniams ryšiams padidėja kolageno atsparumas tempiant, pakyla suvirimo temperatūra, sumažėja išbrinkimas [5]. Didžiausia suvirimo temperatūra nustatyta chromintam pusgaminui, kuris apdorotas be FP. Chrominti pusgaminiai apdoroti tiek FP Codeymac 5.0 M (0,05 % p.m.), tiek FP Vilzim Pro Alk (0,004 % p.m.) pasižymėjo šiek tiek žemesne, tačiau labai artima viena kitai suvirimo temperatūra, atitinkamai 105,0 ± 0,6 °C ir 104,7 ± 0,6 °C.

**3.12 lentelė.** Chrominto pusgaminio drėgnis ir akytumas.

Rodiklis	Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.		
	Be FP	FP Codeymac 5.0 M, 0,05	FP Vilzim Pro Alk, 0,004
<b>Drėgnis, %</b>	64,2	64,0	62,9
<b>Akytumas, %</b>	59,9	61,1	63,7

Chromintų pusgaminų akytumo ir drėgmės kiekio tyrimų rezultatai pateikti 3.12 lentelėje. Mažiausias drėgmės kiekis nustatytas bandinyje apdorotame FP Vilzim Pro Alk (0,004 % p.m.), o bandiniuose, apdorotuose be FP ir FP Codeymac 5.0 M (0,05 % p.m.) gautas labai artimas drėgmės kiekis odoje. Mažiausias akytumas nustatytas chromintam pusgaminui, kuris apdorotas be FP, lygus 59,9 %. Didžiausias akytumas, kuris siekė 63,7 % nustatytas bandiniuose, apdorotuose FP Vilzim Pro Alk (0,004 % p.m.).

**3.13 lentelė.** Chromo junginių sunaudojimas chrominant ir Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> kiekis pusgaminyje po chrominimo.

Rodiklis	Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.		
	Be FP	FP Codeymac 5.0 M, 0,05	FP Vilzim Pro Alk, 0,004
<b>Chromo junginių sunaudojimas, %</b>	70,3	69,4	71,6
<b>Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> kiekis, %</b>	2,2	2,1	2,1

Chromo junginių sunaudojimas (3.13 lentelė) visais apdorojimo atvejais yra labai panašus – nuo 70,3 % apdorojus be fermento iki 71,6 % apdorojus FP Vilzim Pro Alk (0,004 % p.m.). Labai artimas ir chromo oksido kiekis odoje. Chromintuose pusgaminuose, apdorotuose FP buvo tiek pat chromo oksido.

Galima teigti, kad minkštinimo sąlygos (apdorota be fermentinio preparato ar su bet kuriuo iš tirtų) neturėjo lemiamos reikšmės chrominimui. Gautų pusgaminų visos savybės buvo labai panašios. Galbūt reikėtų atkreipti dėmesį į nedidelius suvirimo temperatūros skirtumus. Mažiausiai paveikta minkštinant plikė po chrominimo pasižymėjo aukščiausia suvirimo temperatūra. Taigi, galima manyti, kad stipriau minkštinant paveikta buvo plikė, kuriai apdoroti dėta FP Vilzim Pro Alk (0,004 % p.m.).

### 3.5 Riebinto chrominto pusgaminio analizė

Eksperimento metu buvo minkštinta dviem variantais: dedant FP Codeymac 5.0 M (0,005 % p.m.) ir FP Vilzim Pro Alk (0,004 % p.m.), kitos minkštinimo sąlygos buvo analogiškos.. Bandymams naudoti gabalėliai tik iš kruponinės dalies. Bandiniai apdoroti pagal įprastinę chrominto pusgaminio išdirbimo metodiką. Iki minkštinimo proceso visi bandiniai apdoroti kartu. Po to bandiniai buvo išskirti į dvi dalis ir nukalkinimo – minkštinimo proceso metu apdoroti atskirai. Tolesniuose procesuose bandiniai apdoroti kartu. Po chrominimo proceso nustatyta bandinių suvirimo temperatūra bei odos drėgnis. Chrominto pusgaminio neutralizacija ir riebinimas – procesai, sekantys po chrominimo – yra labai svarbūs. Nuo riebinimo proceso labai priklauso šikšnų atsparumas ir pailgėjimas tempiant [5].

**3.14 lentelė.** Chrominto pusgaminio suvirimo temperatūra, odos bandinių drėgnis ir vidutinis Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> kiekis odoje po chrominimo proceso.

Rodiklis	Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.	
	FP Codeymac 5.0 M, 0,05	FP Vilzim Pro Alk, 0,004
Suvirimo temperatūra, °C	112,0 ± 0,6	108,7 ± 0,6
Drėgnis, %	68,9	70,1
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> kiekis, %	3,9	3,7

Iš 3.14 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad šiek tiek didesne suvirimo temperatūra (112,0 ± 0,6 °C) pasižymėjo bandiniai, kurie buvo apdoroti FP Codeymac 5.0 M (0,005 % p.m.) nei tie, kurie buvo apdoroti FP Vilzim Pro Alk (0,004 % p.m.) (108,7 ± 0,6 °C). Gautus rezultatus galima sieti su didesniu chromo oksido kiekiu, nustatytu FP Codeymac 5.0 M (0,005 % p.m.) apdorotame bandinyje. Šiame bandinyje buvo 3,9 % siekiantis chromo oksido kiekis, kai tuo tarpu FP Vilzim Pro Alk (0,004 % p.m.) apdorotame bandinyje rasta šiek tiek mažiau – 3,7 % chromo oksido.

Didesniu drėgniu pasižymėjo bandinys, apdorotas FP Vilzim Pro Alk (0,004 % p.m.).

Reikia atkreipti dėmesį, kad apdorojant viename chrominimo tirpale, po chrominimo bandinių savybės buvo šiek tiek kitokios nei analogiškai minkštintų bandinių, bet chromintų atskiruose tirpaluose.

**3.15 lentelė.** Odos bandinių drėgnis ir dichlormetane tirpių medžiagų kiekis odoje po riebinimo.

Rodiklis	Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.	
	FP Codeymac 5.0 M, 0,05	FP Vilzim Pro Alk, 0,004
Drėgnis, %	16,2	16,3
Dichlormetane tirpių medžiagų kiekis odoje, %	3,5	3,9

Po riebinimo ir džiovavimo nustatytas bandinių drėgnis ir dichlormetane tirpių medžiagų kiekis pateikti 3.15 lentelėje. Bandinių drėgnis buvo labai panašus. Dichlormetane tirpių medžiagų kiekis odoje, nusakantis riebinančių medžiagų sorbciją, taip pat buvo gana artimas abiem tirtais atvejais.

**3.16 lentelė.** Fizikinės riebinčių chromintų odos pusgaminių savybės.

Rodiklis	Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.	
	FP Codeymac 5.0 M, 0,05	FP Vilzim Pro Alk, 0,004
Santykinis pailgėjimas, kai apkrova 10 N/mm <sup>2</sup> , %	52	49
Santykinis pailgėjimas trūkio metu, %	85	82
Išviršinio sluoksnio atsparumas tempiant, N/mm <sup>2</sup>	2,2	2,1

Riebalai, užpildydami erdvę tarp dermos struktūrinių elementų susilpnina traukos jėgas ir trintį tarp jų. Tokiu būdu riebalai palengvina dermos struktūrinių elementų orientaciją jėgos veikimo kryptimi, padidina atsparumą tempiant, bendrąjį ir liekamąjį pailgėjimą [5].

Palyginus 3.16 lentelėje pateiktas mechanines riebinčių chromintų odos pusgaminių savybes, galima teigti, kad abiem atvejais oda pasižymėjo geromis mechaninėmis savybėmis, kurios visiškai atitinka reikalavimus, keliamus tokio tipo odai. Šiek tiek geresnėmis mechaninėmis savybėmis pasižymėjo FP Codeymac 5.0 M (0,05 % p.m.) apdoroti odos bandiniai.

Apibendrinus atliktus minkštinimo, pikeliavimo ir chrominimo tyrimus matyti, kad naudojant minkštinti FP Vilzim Pro Alk jo dedant 0,004 % p.m., poveikis minkštinamai ir pikeliuotai plikei bei



įtaka chrominimui ir chrominto pusgaminiui savybėms buvo labai artima kai minkštinimui dedant 0,05 % p.m. FP Codeymac 5.0 M. Antra vertus, vis tik galima teigti, kad naudojant tiriamąjį FP poveikis buvo šiek tiek stipresnis: tai rodė ir didesnis akytumas po pikeliavimo ir minkštinimo, šiek tiek žemesnė suvirimo temperatūra po chrominimo ir kai kurie kiti neženkliūs bet pastebimi skirtumai.

### 3.6 Odos bandinių infraraudonoji spektroskopinė analizė

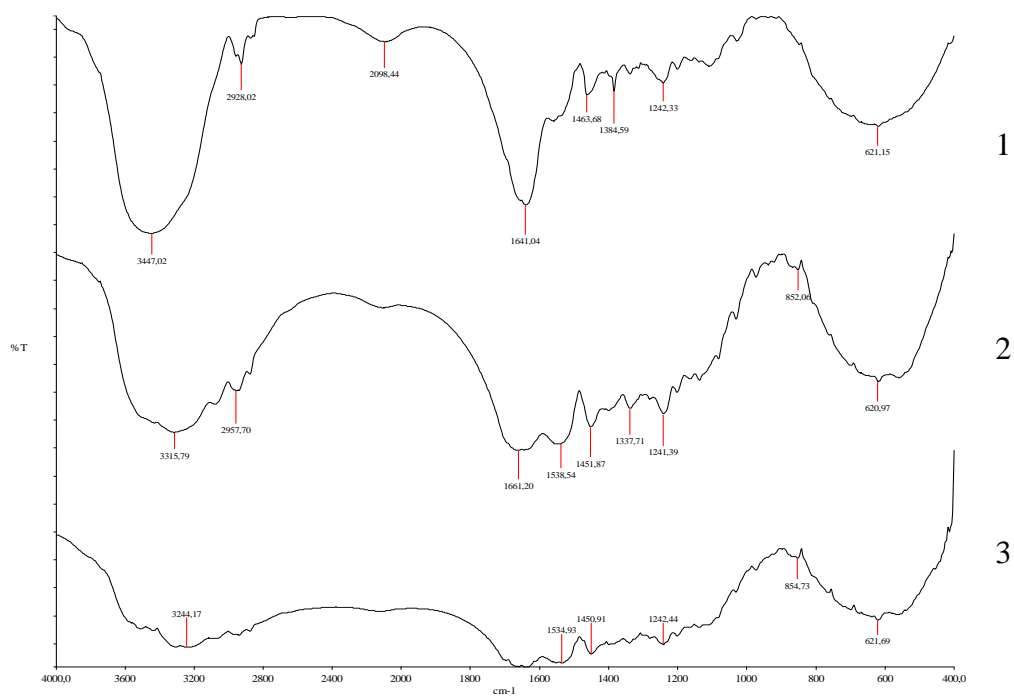
Siekiant išsiaiškinti bandinių struktūros galimus pokyčius atlikta jų infraraudonoji (IR) spektroskopinė analizė. Analizės rezultatai pateikti 3.4 ir 3.5 paveiksluose bei 3.17 ir 3.18 lentelėse. Struktūriniai pokyčiai IR spektruose atsispindi smailių poslinkiais bei intensyvumu.

Spektrams palyginti pasirinktos visiems spektrams būdingos smailės. Vibracijos intervale 3400 – 2500  $\text{cm}^{-1}$  yra būdingos vandeniliniam ryšiui (O-H, N-H ir C-H grupėms) [50]. Intensyviausios smailės šiame intervale būdingos bandinių, apdorotų be FP, spektrams. Smailės intervaluose 1847 – 1578, 1578 – 1482, 1482 – 1407  $\text{cm}^{-1}$  priskirtinos atitinkamai I, II ir III amidiniams ryšiams.

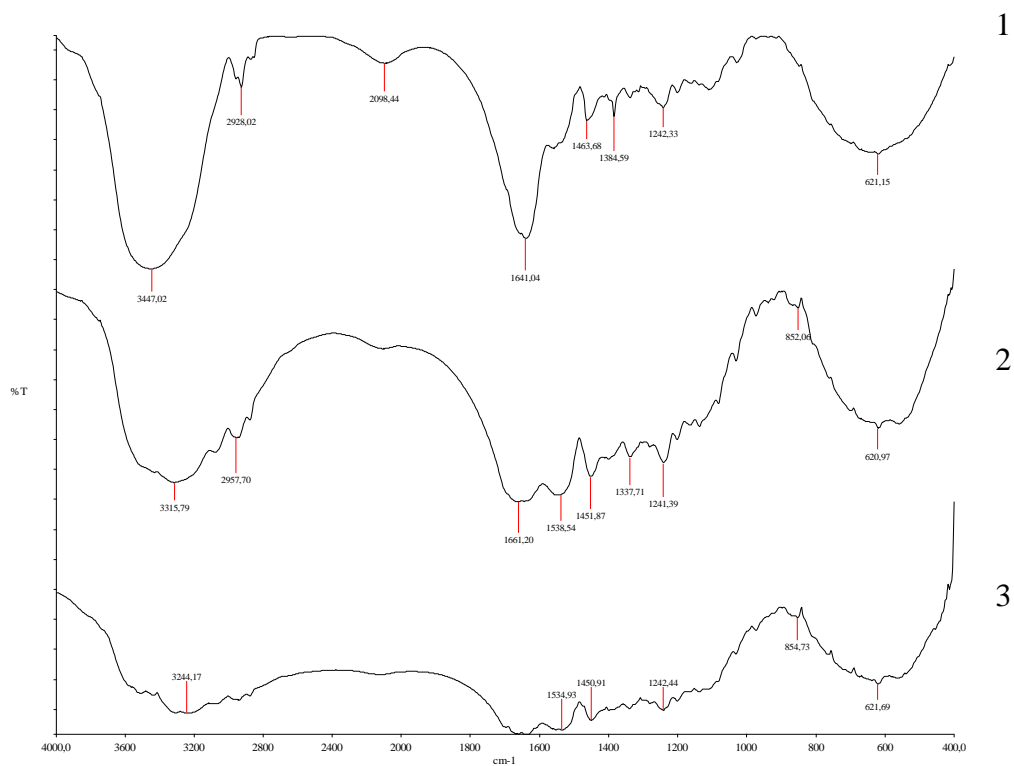
IR analizės metu nustatyta, kad FP apdorotų bandinių struktūra yra panaši (pagal smailių intensyvumus bei jų apskaičiuotus plotus, pateiktus 3.4 ir 3.5 paveiksluose bei 3.17 ir 3.18 lentelėse). Be FP apdorotos odos (tiek po minkštinimo, tiek po chrominimo) spektrams būdingos intensyvesnės smailės, o tai leidžia manyti, kad apdorojant be fermento, odos struktūra buvo silpniau paveikta. Antra vertus, visų bandinių spektrams būdingos tos pačios smailės, o tai leidžia daryti išvadą, kad esminių pokyčių odos struktūroje apdorojus FP neįvyko.

**3.17 lentelė.** IR spektroskopijos kiekybinė analizė po nukalkinimo ir minkštinimo proceso.

Funkcinė grupė ar ryšys, kuriam priskiriami svyravimai	Intervalas, $\text{cm}^{-1}$		Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.					
			Be FP		FP Codeymac 5.0 M, 0,05		FP Vilzim Pro Alk, 0,004	
	Nuo	Iki	y, $\text{cm}^{-1}$	$\Delta S$	y, $\text{cm}^{-1}$	$\Delta S$	y, $\text{cm}^{-1}$	$\Delta S$
N-H; OH	4000	3007	3446,49	46288,69	3424,96	44156,21	3325,49	39695,45
C-H	3007	2823	2927,89	13549,78	2930,23	6407,24	2918,57	5324,98
=C=O "amidinis ryšys I"	1847	1578	1660,30	12814,27	1643,59	5915,96	1653,42	5681,60
"amidinis ryšys II"	1578	1482	1558,01	4733,27	1535,43	1315,90	1537,88	1220,29
"amidinis ryšys III"	1482	1407	1465,24	4218,96	1451,89	1461,63	1449,66	1380,48



**3.4 pav.** Odos bandinių po nukalkinimo ir minkštinimo proceso IR spektrai. 1 – be FP, 2 – FP Codeymac 5.0 M (0,05 % p.m.), 3 – FP Vilzim Pro Alk (0,004 % p.m.).



**3.5 pav.** Odos bandinių po chrominimo proceso IR spektrai. 1 – be FP, 2 – FP Codeymac 5.0 M (0,05 % p.m.), 3 – FP Vilzim Pro Alk (0,004 % p.m.).

**3.18 lentelė.** IR spektroskopijos kiekybinė analizė po chrominimo proceso.

Funkcinė grupė ar ryšys, kuriam priskiriami svy- ravimai	Intervalas, cm <sup>-1</sup>		Minkštinti naudotas FP ir jo kiekis, % p.m.					
			Be FP		FP Codeymac 5.0 M, 0,05		FP Vilzim Pro Alk, 0,004	
	Nuo	Iki	y, cm-1	ΔS	y, cm-1	ΔS	y, cm-1	ΔS
N-H; OH	4000	3007	3447,02	46372,60	3315,79	45037,60	3244,17	48361,22
C-H	3007	2823	2928,02	16336,87	2957,70	7382,16	2963,57	6014,43
=C=O "amidinis ryšys I"	1847	1578	1641,04	14076,07	1661,20	6602,86	1643,65	5746,11
"amidinis ryšys II"	1578	1482	1463,68	6021,52	1538,54	1247,62	1534,93	1411,87
"amidinis ryšys III"	1482	1407	1384,59	5410,66	1451,87	1589,51	1450,91	1599,93

### 3.7 Gamybiniai bandymai

Laboratoriniams rezultatams patikrinti buvo atlikti gamybiniai bandymai UAB „Kėdainių oda“. Gamybinių bandymų aktas pateikiamas 1 priede.

Kadangi laboratorinių tyrimų rezultatai parodė, kad naudojant tiriamąjį FP poveikis buvo šiek tiek stipresnis lyginant su pramonėje naudojamu Codyemac 5.0 M buvo nuspręsta gamybinių bandymu metu tiriamojo FP kiekį minkštinimui dar šiek tiek sumažinti – iki 0,0025 % plikės masės.

Odos bandinisi atliekant gamybinius bandymus išdirbti viename būgne kartu su pilna gamybine partija pagal įmonėje UAB „Kėdainių oda“ veikiančią odų išdirbimo technologiją. Bandiniams atliktas plovimas, atmirkymas, plikimas ir nukalkinimas (naudojant pagalbines medžiagas: Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, STEROL 40, Cletapon FU 100, Neutrogene PK) Po plikimo oda buvo išimta ir perpjauta į dvi vienodas puseles. Dešinioji buvo naudojama kaip kontrolinė, o kairioji – kaip eksperimentinė puselė.

Kontrolinė puselė toliau buvo prijungta prie gamybinės partijos ir jai nukalkinimas – minkštinimas buvo atliktas kaip nurodyta 3.19 lentelėje.

**3.19 lentelė.** Kontrolinio bandinio nukalkinimo – minkštinimo proceso išdirbimo metodika.

Proceso parametrai			Pastabos
Medžiagos pavadinimas ir kiekis % nuo plikės masės	t, °C	Trukmė, min	
H <sub>2</sub> O – 50 %, (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (100 %) – 0,5; H <sub>2</sub> O – 30 %, Cletapon FU 100 – 0,15,	34 – 36	20	Maišoma pastoviai
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 1,2;	34 – 36	20	Maišoma pastoviai
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (100 %) – 2,4;	34 – 36	60	Maišoma pastoviai
H <sub>2</sub> O – 50, FP Codymac 5.0 M – 0,05.	34 – 36	45	Maišoma pastoviai

Nukalkinimas – minkštinimas eksperimentinei pusei buvo atliktas eksperimentiniame būgne, pagal analogišką metodiką, išskyrus tai, kad kaip fermentinis preparatas buvo naudotas preparatas Vilzim Pro Alk, kurio dėta 0,0025 % plikės masės.

Po šio proceso abi puselės buvo išdirbamos kartu su gamybine partija. Kiti išdirbimo procesai bei operacijos bandomajai ir eksperimentinei puselėms atlikti pagal UAB „Kėdainių oda“ galiojančią odų išdirbimo technologiją chromintam įriebintam ir dažytam pusgaminiiui (krastui) gauti.

**3.20 lentelė.** Chromintų pusgaminiių (krasto) cheminiai, fizikiniai ir mechaniniai rodikliai

Rodiklis	Pusgaminis	
	Eksperimentinis	Kontrolinis
Suvirimo temperatūra, °C	112,7	113,3
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> kiekis, %	5,09	5,19
Dichlormetane tirpių medžiagų kiekis, %	7,84	7,88
Stipris tempiant, N/mm <sup>2</sup>	14,6	13,3
Išviršinio sluoksnio stipris tempiant, N/mm <sup>2</sup>	13,4	12,5
Santykinė ištįsa trūkimo metu, %	43,0	43,9
Santykinė ištįsa pasiekus apkrovą 10 N/mm <sup>2</sup> , %	36,6	36,1

3.20 lentelėje pateikti chromintų įriebintų ir dažytų pusgaminiių (krasto) cheminiai bei fizikiniai ir mechaniniai rodikliai. Matyti, kad įriebintas ir dažytas eksperimentinis pusgaminis savo dauguma

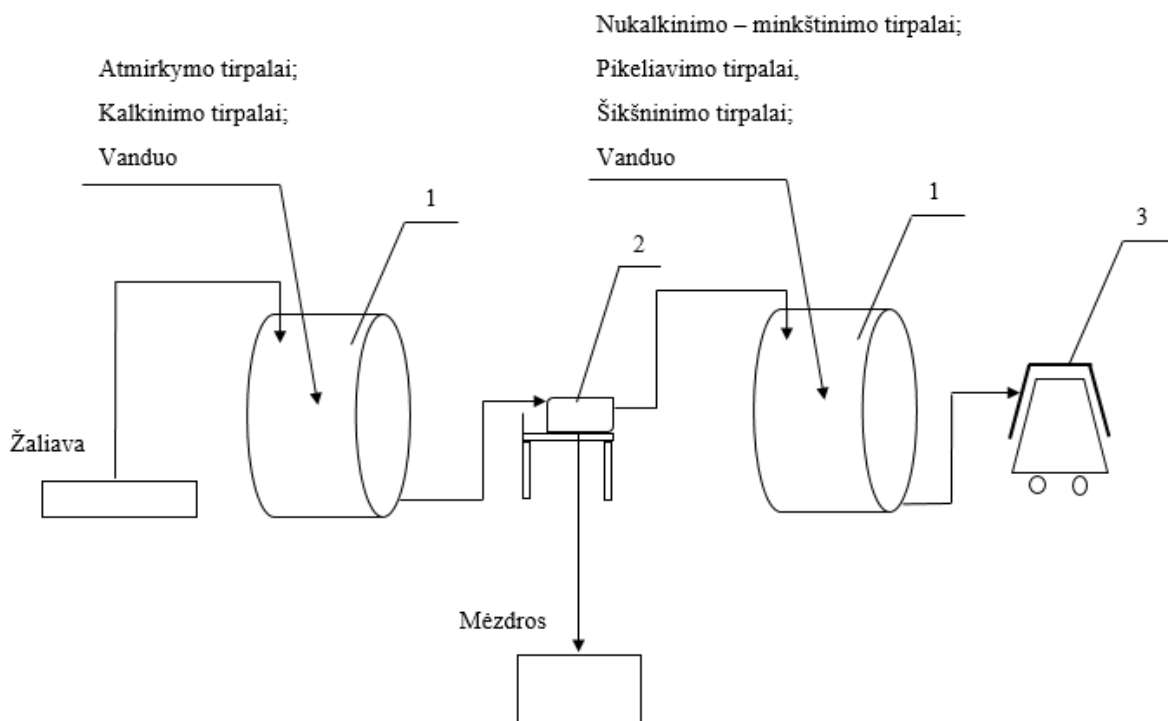
cheminių, fizikinių ir mechaninių rodiklių labai artimas kontroliniam pusgaminiui. Eksperimentinio pusgaminio stipris tempiant ir jo išviršinio sluoksnio stipris tempiant buvo neženkliai didesnis nei bandomųjų. Abiejų pusgaminų kokybinių rodiklių vertės visiškai tenkino tokiems pusgaminiams keliamus reikalavimus.

Pagamintą eksperimentinį pusgaminį įvertinus jusliniais metodais nustatyta, kad valkties atšokimų ir sutraukimų visame plote, kaip ir kontroliniame pusgaminyje, nebuvo.

## 4. REKOMENDACIJOS

Rekomenduojama naudoti FP Vilzim Pro Alk, kai jo dedama 0,0025 % plikės masės, esant 30 °C temperatūrai. Procesui atlikti nereikia papildomos įrangos ir medžiagų.

Principinė aparatūrinė schema pavaizduota 4.1 paveiksle. Odos išdirbimo procesas pradamas žaliavos plovimu bei atmirkymu. Tam naudojamas vanduo ir atmirkymo tirpalai. Po procesų susidarę apdoravimo tirpalai nupilami. Pradedamas odos apdorojimas plikinimo, kalkinimo tirpalais. Po proceso apdorota žaliava vadinama plike. Plikė numėzdrojama, mėzdros pašalinamos, o likusi plikė sukraunama atgal į būgną ir vykdomi plovimo, nukalkinimo – minkštinimo, pikeliavimo bei šikšninimo pikelio tirpale Cr (III) oksidu etapai. Po chrominimo gauti chrominti pusgaminiai ištiesiami ant atsigulėjimo vėžimėlio atsigulėjimui.



**4.1 pav.** Įprastinio chrominto pusgaminio išdirbimo procesų principinė aparatūrinė schema. 1 – būgnas, 2 – numėzdrojimo mašina, 3 – atsigulėjimo vėžimėlis.

## IŠVADOS

1. Fermentų aktyvumas labai priklauso nuo terpės pH. Abu fermentiniai preparatai buvo aktyviausi esant pH 11. pH didinant toliau abiejų fermentų proteolitinis aktyvumas mažėjo. Palyginus tiriamojo fermentinio preparato Vilzim Pro Alk proteolitinį aktyvumą su pramonėje naudojamo fermentinio preparato Codeymac 5.0 M nustatyta, kad tiriamasis fermentinis preparatas pasižymi vidutiniškai 60 kartų didesniu proteolitiniu aktyvumu.

2. Dedant minkštinimui fermentinio preparato Vilzim Pro Alk 0,004 % p.m., gaunamas poveikis minkštinamai plikei yra artimas pramonėje naudojamo fermentinio preparato Codeymac 5.0 M poveikiui, kai pastarojo minkštinimui dedama, tiek kiek rekomenduoja įprasta išdirbimo technologija.

3. Abiem fermentiniais preparatais (fermentiniu preparatu Vilzim Pro Alk – 0,004 % p.m. bei fermentiniu preparatu Codeymac 5.0 M – 0,05 % p.m.) apdoroti bandiniai pasižymėjo panašiomis suvirimo temperatūromis ir vienodu pašalintu kolageninių baltymų kiekiu.

4. Minkštinimo sąlygos (apdorota be fermentinio preparato ar su bet kuriuo iš tirtų) neturėjo lemiamos reikšmės chrominimui. Gautų pusgaminių visos savybės buvo labai panašios. Palyginus mechanines riebintų chromintų odos pusgaminių savybes, abiem atvejais oda pasižymėjo geromis mechaninėmis savybėmis, kurios visiškai atitinka reikalavimus, keliamus tokio tipo odai.

5. Infraraudonosios spektroskopijos analizės metu nustatyta, kad fermentiniais preparatais apdorotų bandinių struktūra yra panaši. Visų bandinių spektrams būdingos tos pačios smailės, o tai leidžia daryti išvadą, kad esminių pokyčių odos struktūroje apdorojus fermentiniais preparatais neįvyko.

6. Tyrimų rezultatai patikrinti gamybinėse sąlygose UAB „Kėdainių oda“. Išdirbant chromintą pusgaminių minkštinimo procesui panaudojus 0,0025 % plikės masės fermentinio preparato Vilzim Pro Alk, gautasis pusgaminis savo savybėmis visiškai atitiko tokiems pusgaminiams keliamus reikalavimus.

## LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. DE-SOUZA F., R., GUTTERRES M. Application of Enzymes in Leather Processing: a Comparison Between Chemical and Coenzymatic Processes. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 2012, 29(3), 471 – 481. ISSN 0104-6632.
2. SAWANT R., NAGENDRAN S. Protease: an Enzyme with Multiple Industrial Applications. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014, 3, 6, 568 – 579. ISSN 2278 – 4357.
3. WELLER R., B., HUNTER H., J., A., MANN M., W. The Function and Structure of the Skin. *Clinical Dermatology, fifth edition*. 2014, 7 – 29. doi: 10.1002/9781118938164.ch2.
4. COVINGTON A., D. *Tannig Chemistry*. The Science of Leather. Cambridge. 2009, 1 – 203. ISBN 978-0-85404-170-1.
5. BALČIŪNIENĖ J., BELEŠKA K., BUIKA G., SKRODENIS A., VALEIKA V. Šikšnų ir kailių technologijos pagrindai. Kaunas. 1999, 10 – 107.
6. GILABERTE Y., PRIETO-TORRES L., PASTUSHENKO I., JUARRANZ A. Anatomy and Function of the Skin. *Nanoscience in Dermatology*. 2016, 1 – 14. ISBN: 978-0-12-802926-8.
7. WILES M., R., WILLIAMS J., AHMAD K., A. Chapter 3: Basic Biology of the Skin. *Essentials of Dermatology for Chiropractors*. 2010, 27 – 31. ISBN-13: 978-0-7637-6157-8.
8. KOLARSICK P., A., J., KOLARSICK M., A., GOODWILL C. Anatomy and Physiology of the Skin. *Journal of the Dermatology Nurses Association*. 2011, 3(4), 203 – 213. doi: 10.1097/JDN.0b013e3182274a98.
9. BARBIERI J., S., WANAT K., SEYKORA J. Skin: Basic Structure and Function. *Pathobiology of Human Disease*. 2014, 1134 – 1144. doi: 10.1016/B978-0-12-386456-7.03501-2.
10. GELSE K., POSCHL E., AIGNER T. Collagens – Structure, Function, and Biosynthesis. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2003, 55, 1531 – 1546.
11. KARSDAL M., A. Biochemistry of Collagens, Laminins and Elastin Structure, Function and Biomarkers. Danija. 2016. ISBN: 978-0-12-809847-9.
12. BOS K., J., HOLMES D., F., KADLER K., E., MCLEOD D., MORRIS N., P., BISHOP P., N. Axial Structure of the Heterotypic Collagen Fibrils of Vitreous Humour and Cartilage. *Journal of Molecular Biology*. 2001, 306, 1011 – 1022.



13. ROSSERT J., de CROMBRUGGHE B. *Type I Collagen: Structure, Synthesis and Regulation*. Principles in Bone Biology, Academic Press, Orlando. 2002, 189 – 210.
14. HARLAN J., W., FEAIRHELLER S., H. Chemistry of the Crosslinking of Collagen During Tanning. Protein Crosslinking. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 1977, 86A, 425 – 440. ISBN 978-1-4684-3282-4.
15. ONEM E., YORGANCIOGLU A., KARAVANA H., A., YILMAZ O. Comparison of Different Tanning Agents on the Stabilization of Collagen via Differential Scanning Calorimetry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2017, 129, 1, 615 – 622.
16. WALSH G. *Industrial Enzymes: Proteases and Carbohydrases*. Proteins: Biochemistry and Biotechnology, Second Edition. 2014, 327 – 369. ISBN:9780470669860.
17. KIRK O., BORCHERT T., V., FUGLSANG C., C. Industrial Enzyme Applications. *Current Opinion in Biotechnology*. 2002, 13(4), 345 – 351.
18. LI Q., LI Y., MAREK P., IVERSON B., L. *Commercial Proteases: Present and Future*. FEBS Letters. 2013, 587, 1155 – 1163.
19. CRAIK C., S., PAGE M., J., MADISON E. Proteases as Therapeutics. *Biochemical Journal*, 2011, 435, 1 – 16.
20. ANTONELLI G., TURRIZIANI O. Antiviral Therapy: Old and Current Issues. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2012, 40, 95 – 102.
21. LOPEZ-OTIN C., BOND J., S. Proteases: Multifunctional Enzymes in Life and Disease. *The Journal of Biological Chemistry*. 2008, 283, 30433 – 30437.
22. SUMANTHA A., LARROCHE C., ASHOK P. Microbiology and Industrial Biotechnology of Food – Grade Proteases: a Perspective. *Food Technology and Biotechnology*. 2006, 44, 211 – 220.
23. DILL K. Dominant Forces in Protein Folding. *Biochemistry*. 1990, 29, 7133 – 7155.
24. CHOUDHARY R., B., JANA A., K., JHA M., K. Enzyme Technology Applications in Leather Processing. *Indian Journal of Chemical Technology*. 2004, 11, 659 – 671
25. ADRIO J., L., DEMAİN A., L. Microbial Enzymes: Tools for Biotechnological Processes. *Biomolecules*. 2014, 4(1), 117 – 139.
26. BAILEY D., G. Handling, Grading and Curing of Hides and Skins. *Inedible Meat by-Products*. 1992, 19 – 34. doi: 10.1007/978-94-011-7933-1\_2.

27. RAJU A., A., CHANDRABABU N., K., ROSE C. ir kt. Eco-friendly Enzymatic Dehairing Using Extracellular Proteases From a *Bacillus* Species Isolate. *The Journal of the American Leather Chemists Association*. 1996, 91, 115 – 119.
28. MOJSOV K. Microbial Alpha – Amylases and Their Industrial Applications: a Review. *International Journals of Management, IT & Engineering*. 2012, 2(10), 583 – 609. ISSN 2249-0558.
29. SINGH R., KUMAR M., MITTAL A., KUMAR MEHTA P. Microbial Enzymes: Industrial Progress in 21st Century. *3 Biotech*. 2016, 6, 174. DOI 10.1007/s13205-016-0485-8.
30. RAO M., B., TANKSALE A., M., GHATGE M., S. ir kt. Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 1998, 62(3), 597 – 635.
31. SHARMA R., CHISTI Y., BANERJEE U., C. Production, Purification, Characterization and Applications of Lipases. *Biotechnology Advances*. 2001, 19, 627 – 662.
32. MONEY C., A. Unhairing and Dewooling - Requirement for Quality and the Environment. *Journal of the Society of Leather Technologies and Chemists*. 1996, 80, 175 – 186.
33. PUVANAKRISHNAN R., DHAR S., C. *Enzyme Technology in Beamhouse Practice*. Niclai Publication, Indija. 1988, 178 – 180.
34. PURUSHOTHAM H., MALATHI S., RAO P., V., RAI C., L., IMMANUEL M., M., RAGHAVAN K., V. Dehairing Enzyme by Solid State Fermentation. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*. 1994, 80, 52 – 56.
35. SIVASUBRAMANIAN S., MANOHAR B., M., PUVANAKRISHNAN R. Mechanism of Enzymatic Dehairing of Skins Using a Bacterial Alkaline Protease. *Chemosphere*. 2008 70(6), 1025 – 1034.
36. BHAVAN S., RAO J., R., NAIR B., U. A Potential New Commercial Method for Processing Leather to Reduce Environmental Impact. *Environmental Science and Pollution Research*. 2008, 15(4), 293 – 295.
37. SARAVANABHAVAN S., ARAVINDHAN R., THANIKAIVELAN P., RAO J., R., NAIR B., U. Green Solution for Tannery Pollution: Effect of Enzyme Based Limefree Unhairing and Fibre Opening in Combination with Pickle-free Chrome Tanning. *Green Chemistry*. 2003, 5(6), 707 – 714.
38. VALEIKA V., BELEŠKA K. ŠIRVAITYTĖ J. Alkalifree Method of Hide Preparation for Tanning. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 2012, 29(2), 315 – 323.

39. MALATHI S., DHAR S., C. Production of Extracellular Protease by an *Aspergillus flavus* Isolate and its Application in the Depilation of Skins. *Leather Science*. 1987, 34, 67 – 76.
40. RAKESH K., RITIKA V. Protease Production by *Bacillus subtilis* Immobilized on Different Matrices. *New York Science Journal*. 2010, 3(7), 20 – 24.
41. VAISHALI C. Recovery of Silver from Used X-ray Films by *Aspergillus versicolor* Protease. *Journal of Academia and Industrial Research*. 2013, 2(1), 39 – 41.
42. ГОЛОВТЕЕВА А., А., КУЦИДИ Д., А., САНКИН Л., Б. *Лабораторный практикум по химии и технологии кожи и меха*. Легкая и пищевая промышленность. Москва. 1982.
43. ЗАЙДЕС, А., А. МИХАЙЛОВ, О. ПУШЕНКО. Модифицированный метод определения оксипролина. *Биохимия*. 1964, 1, 5 – 7.
44. LIETUVOS STANDARTIZACIJOS DEPARTAMENTAS. [LST ISO 3380:2002]. *Oda. Fizikiniai ir mechaniniai bandymai. Susitraukimo temperatūros iki 100 °C nustatymas*.
45. LIETUVOS STANDARTIZACIJOS DEPARTAMENTAS [LST EN ISO 5398-1:2007]. *Oda. Cheminis chromo oksido kiekio nustatymas. 1 dalis. Kiekybinis įvertinimas titravimo būdu*.
46. LIETUVOS STANDARTIZACIJOS DEPARTAMENTAS [LST EN ISO 4684:2006]. *Oda. Cheminiai tyrimai. Lakiųjų medžiagų nustatymas*.
47. LIETUVOS STANDARTIZACIJOS DEPARTAMENTAS [LST EN ISO 4048:2008]. *Oda. Cheminiai tyrimai. Dichlormetane tirpios medžiagos ir laisvųjų riebalų rūgščių kiekio nustatymas*.
48. LIETUVOS STANDARTIZACIJOS DEPARTAMENTAS [LST EN ISO 2589:2002]. *Oda. Fizikiniai ir mechaniniai bandymai. Storio nustatymas*.
49. LIETUVOS STANDARTIZACIJOS DEPARTAMENTAS [LST EN ISO 3376:2002]. *Išdirbta oda. Fizikiniai ir mechaniniai bandymai. Tempiamojo stiprio ir santykinės ištišos nustatymas*.
50. BRYAN M., A., BRAUNER W., ANDERLE G., FLACH C., R., BRODSKY B., MENDELSON, R. FTIR Studies of Collagen Model Peptides: Complementary Experimental and Simulation Approaches to Conformation and Unfolding. *Journal of the American Chemists Society*. 2007, 129, 7877 – 7884.

## **PADĖKOS**

Norėčiau išreikšti ypatingą padėką darbo vadovui dr. Virgilijui. Valeikai už idėjas, skirtą laiką, vertingus patarimus ir kantrybę.

Dėkoju dr. Kęstučiui Beleškai ir Violetai Valeikienei už pagalbą atliekant bandymus, pastabas ir konsultacijas.

Dėkoju UAB „Baltijos enzimai“ už fermentus tyrimams atlikti ir UAB „Kėdainių oda“ už suteiktą galimybę atlikti tyrimus įmonės laboratorijose.

## **PRIEDAI**

**1 priedas.** Gamybinių bandymų aktas.



J. Adomavičius

2018 m. balandžio mėn. 10 d.

## GAMYBINIŲ BANDYMŲ AKTAS

UAB „Kėdainių oda“ atlikti šikšnų išdirbimo gamybiniai bandymai. Bandymų tikslas – panaudoti naujus fermentinius preparatus odų minkštinimo procesui.

Bandymams naudota karvės oda, kuri svėrė 23,2 kg.

Gamybinių bandymų pradžioje šiai odai atliktas plovimas, atmirkymas, plikimas ir nukalkinimas naudojant įvairias pagalbines medžiagas:  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , STEROL 40, Cletapon FU 100, Neutragene PK viename būgne kartu su pilna gamybine partija pagal įmonėje UAB „Kėdainių oda“ veikiančią odų išdirbimo technologiją. Po plikimo oda buvo išimta ir perpjauta į dvi vienodas puseles. Dešinioji buvo naudojama kaip kontrolinė, o kairioji – kaip eksperimentinė puselė.

Kontrolinė puselė toliau vėl buvo prijungta prie gamybinės partijos ir jai nukalkinimas-minkštinimas buvo atliktas taip:

a) Vanduo – 50% (% čia ir toliau nuo plikės masės), temperatūra – 34-36°C,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 0,5%, trukmė – 20 min., režimas – maišoma nepertraukiamai. Tirpalas nupilamas.

b) Vanduo – 30%, temperatūra – 34-36°C, Cletapon FU 100 – 0,15%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 1,2%, trukmė – 20 min., režimas – maišoma nepertraukiamai.

c)  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 2,4%, trukmė – 60 min., vanduo – 50%, temperatūra – 34-36°C, fermentinis preparatas Codymac 5.0 M - 0,05%, trukmė – 45 min., režimas – maišoma nepertraukiamai.

Nukalkinimas-minkštinimas eksperimentinei pusei buvo atliktas eksperimentiniame būgne, pagal analogišką metodiką, kaip ir kontrolinei pusei, išskyrus tai, kad kaip fermentinis preparatas buvo naudotas preparatas Vilzim PRO ALK (Baltijos enzimai, Lietuva), kurio dėta 0,025% plikės masės.

Po šio proceso eksperimentinė puselė buvo gražinta į tą patį būgną, kuriame buvo ir kontrolinė puselė, ir toliau jos abi kartu buvo išdirbamos su gamybine partija.

Kiti išdirbimo procesai bei operacijos bandomajai ir eksperimentinei puselems atlikti pagal UAB „Kėdainių oda“ galiojančią odų išdirbimo technologiją chromintam įriebintam ir dažytam pusgaminiui (krastui) gauti.

Lentelėje pateikti chromintų įriebintų ir dažytų pusgaminių (krasto) cheminiai bei fizikiniai ir mechaniniai rodikliai.

**Lentelė.** Chromintų pusgaminių (krasto) cheminiai, fizikiniai ir mechaniniai rodikliai

Rodiklis	Pusgaminis	
	eksperimentinis	kontrolinis
Suvirimo temperatūra, °C	112,7	113,3
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> kiekis, %	5,09	5,19
Dichlormetane tirpių medžiagų kiekis, %	7,84	7,88
Stipris tempiant, N/mm <sup>2</sup>	14,6	13,3
Išviršinio sluoksnio stipris tempiant, N/mm <sup>2</sup>	13,4	12,5
Santykinė ištįsa trūkimo metu, %	43,0	43,9
Santykinė ištįsa pasiekus apkrovą 10 N/mm <sup>2</sup> , %	36,6	36,1

Matyti, kad įriebintas ir dažytas eksperimentinis pusgaminis savo dauguma cheminių, fizikinių ir mechaninių rodiklių labai artimas kontroliniam pusgaminui. Eksperimentinio pusgaminio stipris tempiant ir jo išviršinio sluoksnio stipris tempiant buvo neženkliai didesnis nei bandomųjų. Abiejų pusgaminių kokybinių rodiklių vertės visiškai tenkino tokiems pusgaminiams keliamus reikalavimus.

Pagamintą eksperimentinį pusgaminį įvertinus jusliniais metodais nustatyta, kad valkties atšokimų ir sutraukimų visame plote, kaip ir kontroliniame pusgaminyje, nebuvo.

## I Š V A D A

Išdirbant chromintą pusgaminį-krastą, minkštinto procesui panaudojus 0,025% plikės masės fermentinio preparato Vilzim PRO ALK, gautasis pusgaminis savo savybėmis visiškai atitiko tokiems pusgaminiams keliamus reikalavimus.

UAB „Kėdainių oda“ vyr. technologė

M. Šliogerienė

UAB „Kėdainių oda“ šlapių operacijų cecho viršininkas

J. Smalinskas

KTU prof.

V. Valeika

KTU magistrantė

S. Mikulytė