



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Fermentų panaudojimas pikeliuojant ir chrominant odas

Baigiamasis magistro projektas

Renata Biškauskaitė

Projekto autorė

Prof. Dr. Virgilijus Valeika

Vadovas

Kaunas, 2019



Kauno technologijos universitetas
Cheminės technologijos fakultetas

Fermentų panaudojimas pikeliuojant ir chrominant odas

Baigiamasis magistro projektas
Pramoninė biotechnologija (6211FX010)

Renata Biškauskaitė

Projekto autorė

Prof. Dr. Virgilijus Valeika

Vadovas

Prof. Dr. Vaclovas Tričys

Recenzentas

Kaunas, 2019



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Renata Biškauskaitė

Fermentų panaudojimas pikeliuojant ir chrominant odas

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad mano, Renatos Biškauskaitės, baigiamasis projektas tema „Fermentų panaudojimas pikeliuojant ir chrominant odas“ 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)

Biškauskaitė, Renata. Fermentų panaudojimas pikeliuojant ir chrominant odas. Magistro baigiamasis projektas / vadovas prof. dr. Virgilijus Valeika; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypčių grupė): technologijos mokslai, biotechnologija.

Reikšminiai žodžiai: *oda, pikeliavimas, chrominimas, fermentai.*

Kaunas, 2019. 54 p.

Santrauka

Odų pramonė apima daugybę sudėtingų procesų, kurių metu gyvūnų kailis ar oda yra išdirbama iki žaliavos, tinkančios kitų produktų tokių kaip batai, rūbai ir kt. gamybai. Cheminių medžiagų (kalkių, sulfidų, chromo junginių) naudojimas odų apdirbimo procesuose ypatingai teršia aplinką, odų pramonėje naudojami chemikalai sudaro apie 80–90 % visų pramonėje susidarančių teršalų.

Dėl vis didėjančio susirūpinimo aplinkosauga ir susidomėjimo aplinkai draugiškai procesais, odos pramonė pradėjo ieškoti būdų kaip sumažinti neigiamą poveikį aplinkai mažinant kenksmingų medžiagų ir vandens sunaudojimą bei racionaliai sunaudojant žaliavą. Šiuo požiūriu, fermentų panaudojimas pramonėje susilaukia vis daugiau pripažinimo, dėl pažangos išskiriant naujus fermentus ir juos gryninant, taip pat enzimai pripažįstami kaip aplinkai draugiškos medžiagos.

Pastaruoju metu yra ištirtas fermentų pritaikymas ir poveikis įvairiuose odų apdirbimo procesuose, tokiuose kaip atmirkymas, plikininimas, minkštinimas, nuriebinimas. Kol kas enzimai plačiausiai odų pramonėje pritaikomi tik minkštinimo procesuose.

Darbo metu atlikti tyrimai, norint nustatyti tiriamųjų fermentinių preparatų Lithudac L ir Zime SB poveikį pikeliuojant ir chrominant odas. Nustatyta fermentinių preparatų įtaka tokioms odos savybėms kaip pašalinamų pikeliavimo metu kolageninių baltymų kiekis, suvirimo temperatūra, akytumas, chromo junginių kiekis odoje ir jų sunaudojimas proceso metu, dichlormetane tirpių medžiagų kiekis po įriebinimo, apdailos procesuose naudojamų medžiagų sunaudojimas, chromintos odos mechaninės savybės. Odos struktūriniai pokyčiai analizuoti IR spektroskopijos metodu.

Remiantis gautais tyrimų rezultatais nustatyta, jog fermentinis pikeliavimas ir chrominimas daro stiprią įtaką išdirbtos odos savybėms. Fermentiškai pikeliuota ir chrominta oda pasižymi didesniu kolageninių baltymų pašalinimu, hidroterminiu stabilumu, chromo junginių odoje kiekiu ir jų sunaudojimu.

Biškauskaitė, Renata. Use of Enzymes for Pickling and Chroming of Hides. Master's Final Degree Project / supervisor prof. dr. Virgilijus Valeika; The Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Study field and area (study field group): technological science, biotechnology.

Keywords: *hide, leather, pickling, chroming, enzymes.*

Kaunas, 2019. 54 p.

Summary

Leather industry includes multiple complex processes before final product can be use as raw material for shoes, clothes and other products manufacturing. Chemicals that are used in leather industry (lime, sulphide, chrome) cause almost 80–90 % pollution.

Leather industry, with increasing interest in environmental friendly processes, started to use the concept of cleaner production to minimize their impact and reduce the demand of harmful materials, water and use rationally raw material. The use of enzymes in the industry is gaining more recognition due to advancements made in their isolation and purification, also they ar known as ecofriendly materials.

Nowadays, enzymes are used in different leather processes such as soaking, unhairing, bating, degreasing. However, currently enzymes in leather industry are mostly applied in bating process.

The main aim of the research was to evaluate enzymes preparations Lithudac L and Zime SB impact during pickling and chroming processes. During the study process impact was determined by collagenous proteins in pickling solutions, shrinkage temperature, porosity, exhaustion of chrome compounds and their amount in chromed leather, amount of matter soluble in dichloromethane, exhaustion of dyes and filling materials, chromed leather mechanical properties. Leather structural changes were analysed by IR spectroscopy.

The obtain results show, that enzymatic pickling and chroming have considerable effect on hide properties. During enzymatic pickling, higher amount of collagen proteins were removed from hide, enzymatic pickled and chromed leather has higher hydrothermal stability, exhaustion of chrome compounds and chrome amount in leather.

TURINYS

Santrumpų ir terminų sąrašas	8
Įvadas	9
1. Literatūros apžvalga	10
1.1. Odos struktūra ir sudėtis	10
1.2. Fermentai odos pramonėje.....	11
1.2.1. Fermentų panaudojimas paruošiamuosiuose tanidinti procesuose.....	11
1.2.2. Fermentų poveikis tanidinant ir procesuose po tanidinimo.....	14
1.2.3. Fermentų panaudojimo privalumai ir trūkumai.....	16
1.3. Odos tanidinimas chromo junginiais	17
1.3.1. Tanidinimo chromo junginiais tikslas ir mechanizmas	17
1.3.2. Chrominimo modifikavimas.....	19
1.3.3. Chrominimo įtaka išdirbtos odos savybėms.....	21
2. Medžiagos ir tyrimų metodai	22
2.1. Tyrimo objektas ir naudotos medžiagos	22
2.2. Bandinio paruošimas	23
2.3. Fermentų aktyvumo nustatymas.....	25
2.4. Kolageninių baltymų kiekio nustatymas	26
2.5. Suvirimo temperatūros nustatymas	28
2.6. Chromo junginių kiekio odoje nustatymas.....	28
2.7. Chromo junginių kiekio sunaudojimas.....	29
2.8. Odos akytumo nustatymas.....	29
2.9. Fizikinių ir mechaninių savybių nustatymas	30
2.10. Drėgnio nustatymas	30
2.11. Dichlormetane tirpių medžiagų kiekio nustatymas	30
2.12. Dažiklio ir pripildymo medžiagų kiekio odoje nustatymas.....	30
2.13. Chromintos odos infraraudonoji spektroskopinė analizė	31
3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas	32

3.1. Fermentinių preparatų Lithudac L ir Zime SB aktyvumo nustatymas	32
3.2. Kolageninių baltymų pokyčiai pikeliavimo metu	34
3.3. Pikeliuotos plikės suvirimo temperatūros nustatymas.....	36
3.4. Chromo junginių kiekis odoje ir apdorojimo tirpale	37
3.5. Odos aktyvumo kitimas odos išdirbimo procesų metu.....	38
3.6. Skysčio koeficiento įtaka fermentiniam pikeliavimui ir chrominimui	39
3.7. Fermentinio chrominimo įtaka gaunamo pusgaminių savybėms	41
3.8. Odos fizikinių ir mechaninių savybių nustatymas.....	42
3.9. Drėgnio ir dichlormetane tirpių medžiagų kiekio nustatymas.....	43
3.10. Dažymo ir pripildymo procesų efektyvumas	44
3.11. Chromintos odos infraraudonoji spektroskopinė analizė	45
4. Rekomendacijų dalis	48
Išvados	49
Literatūros sąrašas	50
Priedai.....	54

Santrumpų ir terminų sąrašas

FP – fermentinis preparatas

IR – infraraudonoji spektroskopija

Įvadas

Odų pramonė apima daugybę sudėtingų procesų, kurių metu gyvūnų kailis ar oda yra išdirbama iki žaliavos, tinkančios kitų produktų tokių kaip batai, rūbai ir kt. gamybai. Cheminių medžiagų (kalkių, sulfidų, chromo junginių) naudojimas odų apdirbimo procesuose ypatingai teršia aplinką, odų pramonėje naudojami chemikalai sudaro apie 80–90 % visų pramonėje susidarančių teršalų [1].

Dėl vis didėjančio susirūpinimo aplinkosauga ir susidomėjimo aplinkai draugiškai procesais, odos pramonė pradėjo ieškoti būdų kaip sumažinti neigiamą poveikį aplinkai bei cheminių medžiagų, vandens ir žaliavų praradimą. Fermentų panaudojimas pramonėje susilaukia vis daugiau pripažinimo, dėl pažangos fermentų gryninimo, vystymo ir tobulinimo procesuose, taip pat enzimai pripažįstami kaip aplinkai draugiškos medžiagos [2].

Pastaruoju metu yra ištirtas fermentų pritaikymas ir poveikis įvairiuose odų apdirbimo procesuose, tokiuose kaip atmirkymas, plikimas, minkštinimas, nuriebinimas. Kol kas enzimai plačiausiai odų pramonėje pritaikomi tik minkštinimo procesuose.

Norint fermentus pritaikyti kituose išdirbimo procesuose, būtina ištirti fermentų poveikį ir galimą pritaikymą odos pramonėje.

Projekto tikslas – ištirti fermentinių preparatų Lithudac L ir Zime SB, dedamų pikeliavimo ar chrominimo metu, poveikį odos baltymams, procesų eigai bei išdirbtos odos savybėms ir įvertinti šių preparatų tinkamumą odai išdirbti. Tikslui pasiekti išskirti tokie **uždaviniai**:

1. nustatyti fermentinių preparatų Lithudac L ir Zime SB aktyvumo priklausomybę nuo pH ir temperatūros;
2. ištirti fermentinių preparatų, dedamų pikeliuojant, įtaką pikeliuojamos ir chrominamos odos pokyčiams bei procesų eigai;
3. išanalizuoti skysčio koeficiento įtaką fermentinio pikeliavimo bei chrominimo procesams;
4. ištirti fermentų priedo, dedamo chrominant, įtaką proceso eigai ir gaunamo pusgaminio savybėms;
5. įvertinti fermentinio pikeliavimo įtaką tolimesniems riebinimo bei apdailos procesams, nustatant procesų kokybę apibūdinančius rodiklius;
6. infraraudonosios spektroskopijos analize įvertinti įvairiai pikeliuojant išdirbtos odos struktūrinius skirtumus.

1. Literatūros apžvalga

1.1. Odos struktūra ir sudėtis

Oda susideda iš trijų sluoksnių: epidermio, dermos ir poodinio audinio. Išorinis sluoksnis (epidermis) susideda iš daugybės specifinių ląstelių vadinamų keratinocitais, kurie dalyvauja ilgo siūlinio baltymo, atliekančio apsauginę funkciją, keratino sintezėje. Vidurinis sluoksnis (tikroji oda arba derma) yra daugiausiai sudaryta iš pluoštinio baltymo kolageno. Derma išsidėsčius ant poodinio sluoksnio, dar žinoma kaip panikulo, kuris turi daug mažų riebalinių ląstelių-lipocitų. Visų šių odą sudarančių sluoksnių storis gali labai skirtis, jis priklauso nuo vietos kūne: vokai turi ploniausią epidermio sluoksnį, tikroji oda storiausia nugaroje, joje derma yra 30–40 kartų storesnė už epidermį [3].

Epidermis yra nuolat atsinaujinantis epitelis, kuris yra paprastai suskirstytas į keletą sluoksnių. Epidermyje esantis keratinas ir filagrinas sudaro nuo 80 % iki 90 % žinduolių epidermio baltymų masės. Kiti struktūriniai baltymai, tokie kaip invukrinai, lorikrinai ir keratolinai, yra randami viršutiniuose ląstelių sluoksniuose [4].

Vidurinis sluoksnis – derma yra pagrindinis odos sluoksnis, kuris sudarytas iš intersticinių (kolageno pluoštų, elastingų audinių ir sausųjų medžiagų) ir ląstelių (fibroblastų, odos dendrito, heterocitų ir kt.) komponentų. Dermoje taip pat yra kraujagyslių, limfinių kanalų ir jutiminių nervų. Šiame sluoksnyje vyrauja I tipo kolagenas, tačiau taip pat galima rasti ir III tipo kolageną. Be I ir II tipų, odoje yra ir elastingų pluoštų, kurie nors ir nėra stiprūs kaip kolageno fibrilės, tačiau suteikia odai lankstumo. Jie sudaro apie 5 % sausos dermos masės ir susideda iš elastino ir elastingų mikrofibrilių (fibrilino) [5].

Poodis yra giliausias odos sluoksnis sudarytas iš lipocitų. Lipocitai yra išsidėstę riebalų lobulėse (skiltelėse), kurios viena nuo kitos atskirtos pluoštinėmis septomis. Fibrilių pluoštai esantys dermoje sustiprina ryšį tarp dviejų sluoksnių: dermos ir poodžio. Nenutukusiuose objektuose net 80 % visų kūno riebalų išsidėstę poodiniame sluoksnyje [5].

Pagrindinis odos struktūrinis komponentas yra I tipo kolagenas, nuo kurio priklauso odos stiprumas. Iš daugelio veiksnių, nuo kurių priklauso tiek neišdirbtos, tiek išdirbtos odos stiprumas, buvo išskirti trys svarbiausi: kolageno tipas ir skersiniai ryšiai tarp kolageno fibrilių, kolageno fibrilių orientacija ir fibrilių diametras. [6].

Kolageno baltymas turi sudėtingą hierarchinę sudėtį kuri yra suskirstyta į keturias struktūras: pirminę (amino rūgščių tripletai), antrinę (α -spirale), tretinę (trigubą spirale) ir ketvirtinę (fibriles) [7].

Kiekvienas kolageno tipas turi tris polipeptidines grandines, kiekvienoje iš jų yra mažiausiai viena Gly-X-Y seka, kurios α -padėties spirale sukasi pagal „kairės rankos taisyklę“, o X ir Y vietose dažniausiai yra prolinas ir hidroksiprolinas. Tokios trys α -padėties spirales išsidėsto kartu, taip suformuodamos charakteringą kolageno struktūrą, - „dešinės rankos“ trigubą spirale [8]. Gly yra išsidėstęs kas trečioje amino rūgšties liekanoje, griežta seka (Gly-x-y)_n. Taip pat kolagenas ypatingas tuo, jog hidroksiprolinas, kuris gana retai randamas kituose baltymuose, sudaro daugiau nei 50 % visų amino rūgščių kiekio [7].

Skirtingos sekos ir savybės pirminėje kolageno struktūroje suteikia šiam baltymui išskirtinę erdvinę struktūrą. Dėl cikliškos prolinos struktūros, kiekviena polipeptido grandinė suformuoja spirale, kuri

yra stabilizuojama tarpmolekuliniais vandenilio ryšiais [9]. Struktūra tripletuose yra stabilizuojama vienu ar dviem tarpmolekuliniais vandenilniais ryšiais. Be to, visos aminorūgščių liekanos, esančios X ir Y padėtyse, gali būti stipriai veikiamos tirpiklio, triguboji spiralinė struktūra gali puikiai sąveikauti su vandens molekulėmis. Esminis šios struktūros bruožas yra stiprūs vandeniliniai ryšiai tarp oksiprolino OH grupės ir vandens molekulės tripletuose, tokiuose kaip Gly-X-Hyp (bet ne Gly-Pro-Hyp). Pagal tokį modelį vandens molekulės, išsidėsčiusios išilgai trigubosios spiralės, atlieka svarbų vaidmenį stabilizuojant kolageno struktūrą. Būtent todėl kolagenas yra tinkamas objektas kiekybiniam poveikiui įvertinti nesant hidrofobinėms grupėms, kurios papildomai hidratuotos denatūracijos metu [10].

α -grandinės susiformuoja pagal tripeptido $-(\text{Gly-X-Y})_n-$ pasikartojimus ir yra sujungtos viena su kita taip sudarydamos charakteringą trigubąją I, II ir III tipo kolageno spiralę. Nespiraliniai telopeptidai yra α -grandinių pabaigoje, kur C-galas yra susijęs su trigubosios spiralės formavimu ir N-galas yra susijęs su pirminiu fibrilių diametru reguliavimu. Trumpasis nespiralinis kolageno telopeptidas yra sujungtas kovalentiniu kryžminiu ryšiu, kuris susiformuoja tarp kolageno molekulių ir / arba tarp kolageno ir kitų molekulių [7].

Trigubąją spiralę turinčios molekulės linkusios sudaryti mikrofibriles, kurios išsidėsto persistumiant viena kitos atžvilgiu per ketvirtį ilgio, dėl ko susiformuoja persidengimo ir plyšių sritys. Šios sritys apibrėžia charakteringą juostų modelį, kuris matomas kolageno fibrilėse naudojant atominės jėgos arba skenuojančią elektroninę mikroskopiją. Tokios besikartojančios sekos yra žinomos kaip *d* periodas. Mikrofibrilės, išsidėsčiusios lygiagrečiai ir per kryžminius ryšius, sudaro kolageno fibriles [11].

Kolageno fibrilių išdėstymas gali labai skirtis tarp skirtingų audinių. Odoje, kolageno fibrilės dažniausiai turi mažą skersmens diametru ir sudaro atsitiktinę tinklinę struktūrą. Nustatyta, kad daugelis kolagenų, ypač I, III ir VI tipo, yra atsparūs kalkinimui, minkštinimui ir rauginimui. Kolageno fibrilėms būdingas didelis stiprumas ir būtent jos yra labai svarbios galutinėms fizinėms odos savybėms. Manoma, kad odos stiprumas ir minkštumas yra susiję su vidine odos struktūra [11].

1.2. Fermentai odos pramonėje

Odos išdirbimas apima daugybę procesų, iš kurių odos plikimas yra vienas iš svarbesnių procesų odos gamyboje. Nuo odos, prieš tanidinimą, pirmiausiai turi būti pašalinti epidermis ir plaukai, įskaitant plaukų šaknis ir keratininę medžiagą, kuri užpildo plaukų folikulus. Biotechnologijos procesų panaudojimas odos pramonėje, pakeičiant chemikalus fermentais, gali būti puiki alternatyva aplinkos taršai sumažinti. Fermentai gali būti naudojami skirtinguose procesuose: atmirkymo, kalkinimo, plikinimo, minkštinimo, dažymo, nuriebinimo, taip pat nuotekų valymo. Naudojant fermentus odos išdirbime trumpėja drėkinimo laikas, geresnis purenamas odos pluoštas, lengvesnis ištirpusių baltymų, riebalų ir angliavandenių pašalinimas [12].

1.2.1. Fermentų panaudojimas paruošiamuosiuose tanidinti procesuose

Mirkymas yra vienas pirmųjų procesų apdirbant odą. Mirkymo tikslas yra rehidratuoti odą po jos konservavimo, pritaikyti odos būklę tolimesniam apdirbimui ir pašalinti ne kolageninius junginius. Šiam apdirbimo procesui dažnai naudojami šarmai, natrio sulfidas, druska ir paviršinio aktyvumo medžiagos. Tačiau naudojant tokius cheminius reagentus susidaro daug teršalų [13]. Naudojant fermentus galima to išvengti. Mirkant kailius naudojami karbohidrazių ir proteazių rūšių fermentai.

Tokio proceso privalumai yra trumpesnis mirkymo laikas, gneisto (plaukų irimo likučių) atpalaidavimas, pluošto purenimo inicijavimas ir produkto su nesutrauktu paviršiumi gavimas [14]. Specifinės proteazės ir lipazės didina vandens pasisavinimą odoje, ištirpdydamos tarpfibrilinius baltymus, kurie atlieka pluošte jungiamąją funkciją bei skaido riebalus ir aliejus kartu su purvu ir kitais nešvarumais. Naudojant fermentus padidėja minkštumas ir elastiškumas, sutrumpėja paties apdirbimo laikas [15]. Tačiau fermentinis mirkymas yra gana brangus procesas [14].

Proteazės, naudojamos fermentiniame mirkyme, išskiriamos iš *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. oryzae*, ir *Bacillus subtilis*. Mirkymui naudojami proteolitiniai fermentai ir karboksihidrazės esant pH nuo 5,5 iki 10. Sausiems kailiams ir odai reikalingas ilgesnis mirkymo procesas, norint iki galo įvykdyti rehidrataciją. Norint sumažinti mirkymo trukmę, svarbų vaidmenį gali atlikti enzimai. Yra atlikta įvairių tyrimų fermentų veiklai įvertinti. Tirti kailio gabalėliai vandens tirpaluose su skirtingomis fermentų koncentracijomis ir periodiškai stebima vandens sulaikymo talpa, kailio minkštėjimas. Tyrimas parodė, jog didėjant fermento koncentracijai (nuo 0,1 % iki 0,5 %) kailio drėgmė taip pat didėjo. Drėgmės didėjimas vyksta dėl baltymų (globulinių baltymų), esančių odoje, hidrolizės [16].

Dar vienas odos apdorojimo procesas, kuriame gali būti naudojami enzimai – plikinimas. Plikinimo metu plaukai pašalinami nuo odos. Iki galo atlikus plaukų atskyrimą nuo odos, plaukai gali būti išsaugomi ir atskirti filtracijos metodu (tausojant plaukus) arba chemiškai ištirpdyti tirpale, kuriame vyko plikinimas [17].

Plikinimas yra vienas labiausiai teršiančių procesų odos apdirbime. Plikinimo metu susidaro iki 60–70 % visų atliekų [18]. Naudojant kalkes ir sulfidą susidaro didelis kiekis sulfido, kuris yra nuodingas ir kurį sunku sunaikinti. Tirpdant plaukus chemiškai gaunami dideli teršalų kiekiai, o išsaugant atskirtus plaukus reikia tinkamų technologijų jiems išvalyti [17]. Naudojant fermentus galima vykdyti ekologiškesnį plikinimo procesą [19].

Apie fermentų panaudojimą plikinimo metu buvo plačiai diskutuojama nuo to laiko, kuomet buvo atrasti mikrobiniai fermentų šaltiniai ir kada buvo pasiūlyti fermentų pritaikymo būdai. Plikinime naudojami fermentai katalizuoja keratino, esančio plaukuose, ardymą. Dėl to plaukai gali būti lengvai pašalinti nuo odos [20].

Fermentai, naudojami plikinime, dažniausiai yra proteolitiniai – katalizuojantys baltymų irimą. Šios medžiagos gali būti gyvulinės kilmės, gautos iš bakterijų, grybų ar augalų. Dažniausiai naudojamos proteazės kartu su nedideliu kiekiu kalkių ir sulfido [14].

Proteazių naudojimas plikinimo procese turi daug privalumų: reikia mažiau sulfidų, atitinkamai mažiau jų patenka į nuotekas, atskiriami nesuardyti plaukai ir vilna pasižymi gera kokybe, gaunamas didesnis odos plotas, darbininkams lengvėja odos tvarkymas / apdorojimas, supaprastinamas pirminis apdorojimas, po nukalkinimo nebūtinai minkštėjimo procesas ir galutinis produktas pasižymi gera kokybe. Reikia paminėti, kad naudojant fermentus procesas yra brangesnis už įprastinį, nes reikia ypatingos kontrolės, be to, kolagenas nepakankamai išbrinksta [20].

Komerciniams tikslams pagaminti proteolitiniai fermentai, kurie yra panaudojami plikinimo procese, sudaro daugiau nei 40 % visų parduodamų fermentų. Maždaug 50 % šių fermentų yra panaudojami pramoniniuose procesuose. Taip pat proteolitiniai fermentai yra efektyvesni už amilolitinius, nes šie fermentai pašalina plaukus, nepažeisdami dermoje esančio kolageno pluošto [21].

Nors proteazių panaudojimas plikinyje yra plačiai tirtas – be kalkių, sulfido arba abiejų medžiagų, fermentų taikymas pramonėje vis dar nėra labai paplitęs. Odos išdirbimo gamyklos dvejoja naudoti fermentus dėl tam tikrų trūkumų: dėl jų negebėjimo paveikti įvairių tipų odas ir pašalinti plonus plaukus (povilni), negalėjimas jų pritaikyti plačiame pH ir temperatūros intervale (dėl fermentų nestabilumo), ilgas proceso laikas, didelės gamybos sąnaudos. Taip pat, nors plaukai plikinyje metu yra pašalinami, fermentų naudojimas dažnai susilpnina patį kolageną. Kolageno sluoksnio pažeidimas naudojant proteazes gali įvykti dėl nespecifinės fermento reakcijos su baltymu arba dėl fermento, skaidančio kolageną, buvimo enzimo preparate. Bet koks kolageno pažeidimas, sukeltas fermentinio apdorojimo metu, gali bloginti fizikines išdirbtos odos savybes, sumažindamas jos kokybę [22].

Pagrindinis trūkumas, sunkinantis proteazės pritaikymą pramonėje, yra negebėjimas apriboti proteolitinį aktyvumą taip, kad jis veiktų tik epidermio sluoksnį, plaukų folikulus / plaukus ir pagrindinę membraną. Deja, fermento veikimo apriboti neįmanoma – tam tikras aktyvumas kolageno struktūrai yra neišvengiamas, o tai blogina odos kokybę. Šiuo metu, norint naudoti šį fermentą, yra būtina užtikrinti aukštą fermentinės reakcijos kontrolę. Fermentinio plikinyje metu atsukti sacharidai ir baltymai patenka į fermentų mišinio tirpalą. Sacharidų ir baltymų koncentracija gali būti naudojama kaip indikatorius fermentiniam plikinyje įvertinti. Taip pat, pagal kolageno koncentraciją tirpale galime spręsti apie fermento galimą poveikį odos kokybei [23].

Fermentai odos pramonėje naudojami ir minkštinimui. Minkštymas – plikintų odų apdorojimas fermentų vandeniniuose tirpaluose norint pašalinti ne-kolageninius baltymus. Pagrindinė šio proceso paskirtis yra keratozės medžiagos hidrolizė ir pašalinimas nuo odos paviršiaus, t.y. gneisto pašalinimas. Gneistas yra sudarytas iš epidermio, plaukų šaknų, pigmentų, riebalų, riebalinių liaukų ir prakaito liaukų liekanų. Minkštymas, kuris yra vykdomas po plikinyje, išdirbtą odą padaro švelnesnę, tampresnę, minkštesnę. Minkštymo proceso metu yra veikiamas elastinas ir padidinamas odos elastingumas, tūsumas, lankstumas [24]. Minkštymas yra vienas svarbiausių procesų pašalinant nepageidaujamus baltymus iš odos ir jis daro lemiamą įtaką išdirbtos odos kokybei. Minkštinimui naudojant enzimus pasiekama geriausia kokybė ir šis procesas negali būti atliekamas naudojant chemines medžiagas [25]. Priklausomai nuo išdirbtos odos tolimesnio pritaikymo (drabužiams, mašinų sėdynėms ir t.t.) yra naudojami skirtingi fermentai. Išskiriami trys pagrindiniai fermentai minkštymo procesuose: kasos proteazė (tripsinas išskirtas iš galvijų ir kiaulių kasos liaukų), proteazė išskirta iš pelėsių grybų, kuri veikia rūgštinėje terpėje (pH 3,5–5,0) ir bakterinė proteazė, kuri yra aktyvi neutralioje terpėje (pH 6,2–7,0) [24].

Fermentai minkštinimui buvo naudojami nuo seno [26]. Tradiciniame minkštinyje buvo naudojamos gyvūninės atliekos, kurios, nors ir turėjo minkštinamąjį efektą, veikė lėtai ir skleidė nemalonų kvapą. Vėliau, besivystant biotechnologijoms buvo atrasta, jog minkštymo efektas, proceso metu buvo pasiekiamas dėl išsiskyrusių kasos proteazių. Po šio atradimo minkštinyje imta taikyti pramoninius fermentus [25].

Anksčiau daugiausiai buvo naudojami fermentai išskirti iš galvijų ir kiaulių, tačiau proteazės, išskirtos iš mikroorganizmų, turi didesnę aktyvumą nei pastarieji. Atlikti tyrimai parodė, jog proteazės, išskirtos iš bakterijų, smarkiai sumažina kolageno solubilizaciją. Po atliktų tyrimų pasiūlyta naudoti kasos fermentų ir bakterinių proteazių mišinį, kuris praplėstų kokybiškos odos gavimo galimybes [26].

Tiek gyvūninės, tiek bakterinės kilmės fermentai yra maišomi su inertinėmis medžiagomis siekiant sureguliuoti jų aktyvumą. Minkštinimas, pasiekus norimą minkštumo laipsnį, yra sustabdomas sumažinant pH ir temperatūrą. Nustatyti pakankamą minkštumą yra gana sunku, šis procesas dar nėra standartizuotas, todėl minkštinimas yra sustabdomas remiantis patyrusio personalo empiriniu įvertinimu [17].

Vienas iš paskutinių etapų, parengiamuosiuose odos procesuose prieš tanidinimą, yra nuriebinimas. Šis procesas yra labai svarbus dėl riebalų pašalinimo iš odos. Būtent šis etapas nulemia tanidiniame naudojamų medžiagų veikimą. Gerai atliktas nuriebinimas padeda išlyginti paviršiuje likusius riebalus, o tai yra ypač svarbu išdirbamos odos minkštumo palaikymui, kuris tolimesnio išdirbimo metu keičiasi. Tačiau dėl sudėtingos daugelio natūralių riebalų sudėties kartu su difuzijos problemomis reikalingas didžiulis kiekis detergentų [27].

Natūraliai odoje esantys riebalai gali sukelti įvairius defektus: riebalų dėmes, netolygų dažymą ir apdirbimą, vašku dėmes, rausvas dėmes ant chromintos odos. Tradicinis cheminis nuriebinimas yra atliekamas naudojant detergentų vandenines emulsijas arba tirpiklius [28]. Standartiniuose metuose yra naudojamos anijoninės arba nejoninės paviršiaus aktyvumo medžiagos arba tirpikliai. Paviršiaus aktyvumo medžiagos leidžia procesą vykdyti vandeninėje terpėje, bet galutinis rezultatas ne visada yra patenkinamas. Nors tirpikliai yra efektyvesni, jie reikalauja daug išankstinių parengiamųjų darbų/operacijų, kurie didina kainą, prailgina patį procesą, sukelia didžiules ekologines problemas [14]. Naudojamos cheminės priemonės didina nuotekų biologinį deguonies suvartojimą [28].

Norint mažinti taršą, buvo tirtas fermentinio ir cheminio nuriebinimo procesų efektyvumas. Palyginus abu procesus nustatyta, jog naudojant bet kurį iš procesų yra pasiekiamas toks pat 50 % efektyvumas. Po šių tyrimų paskatintas fermentų naudojimas nuriebinimo procesuose, norint sumažinti ar netgi pašalinti taršos problemas, atsirandančias dėl naudojamų ploviklių ir tirpiklių [28].

Riebalų pašalinimo procesas skirstomas į tris etapus: a) pažeidžiama riebalų ląstelių baltyminė membrana; b) riebalai pašalinami; c) riebalai emulguojami vandenyje arba tirpinami tirpiklyje. Jei bent vienas etapas yra atliekamas neteisingai ar netinkamai, visas procesas bus laikomas netinkamu. Dėl šių etapų reikalingas efektyvus trigubo veikimo fermentinis preparatas (FP), kuris galėtų vykdyti proteolizę, lipolizę bei emulsinimą [14].

Mokslininkai nustatė, jog lipazės, išskirtos iš mikroskopinių grybų, yra efektyvios pašalinant riebalus nuo odų ir kailių. Be to, iš bakterijų išskirti fermentai pasižymi trumpu riebalų šalinimo procesu ir dideliu efektyvumu. Vėlesniuose tyrimuose nustatyta, kad lipazės (kitais nei cheminiais reagentais) pašalina ne visų tipų riebalus. Todėl ištirtas efektyvumo padidėjimas, kai šarminės lipazės naudojamos kartu su proteazėmis. Derinant lipazes kartu su proteazėmis pasiekiamas didesnis efektyvumas todėl, kad proteazės atveria riebalinių ląstelių membranas, taip riebalai tampa lengviau prieinami lipazei [28].

1.2.2. Fermentų poveikis tanidinant ir procesuose po tanidinimo

Tanidinimas yra vienas svarbiausių procesų odos apdorojime. Tačiau jo metu, priklausomai nuo naudojamų cheminių medžiagų, susidaro didelis kiekis teršalų, kuriuos utilizuoti yra sudėtinga.

Šiuo metu yra bandoma rasti fermentinį odos tanidinimo metodą, praleidžiant pikeliavimą. Toks tanidinimas yra paremtas tuo, kad fermentai (rūgštinės proteazės) padeda atverti pluoštinio kolageno tinklą, taip didinant augalų tanidų difuziją į odos matricas ir didinant kolageno kontaktuojamą paviršių [29].

Augalų tanidai negali būti naudojami iškart po nukalkinimo, nes tuomet tanidai fiksuoja paviršiuje, taip sąlygodami odos kietėjimą. Tanidinant fermentiniu metodu odos pH yra mažinamas iki 4,5–5,0 naudojant oksalo ir neorganinę, neskatinančią brinkimo, rūgštį. Esant tokiam pH rūgštinių proteazių fermento aktyvumas yra optimaliausias, kolageno matrica yra lengviausiai apdorojama, o tai nulemia geresnį tanidų įsiskverbimą į kolageno matricą. Po to pH yra mažinamas iki 3,5–3,7, naudojant nedidelį kiekį skruzdžių rūgšties, norint užfiksuoti įsiskverbimus odoje tanidus [29].

Lyginant įprastinį tanidinimą ir fermentinį, proceso trukmė fermentiniu metodu yra ženkliai trumpesnė, kadangi augalų tanidų difuzija į oda fermentų pagalba yra greitesnė. Šis procesas aiškinama tuo, kad tanidų dalelės, turinčios didesnę molekulinę masę, gali greičiau įsiskverbti fermentinio apdorojimo metu, kuomet fibrilių matricos yra plačiai atveriamos [29].

Fermento 0,2 % koncentracija yra optimaliausia, esant 4,5 pH ir veikiant 30 min 20 % augaliniais tanidais. Šio proceso metu pasiekiamas optimalus tanidų įsisavinimas ir aukštas hidroterminis stabilumas. Išdirbta oda yra pilnesnė, o hidroterminis stabilumas yra aukštesnis, nei apdorojant įprastu metodu. Skenuojančioji elektroninė mikroskopija parodė, jog fermentinis tanidinimas geriau atveria fibrilių pluoštus ir geriau jas atskiria. Vienas didžiausių pranašumų naudojant fermentinį tanidinimą – ekologiškumas. Tanidinimo metu kietųjų dalelių, chloridų kiekiai ir cheminis deguonies suvartojimas sumažėja atitinkamai 76, 97 ir 25 % lyginant su įprastiniu tanidinimo procesu [29].

Po tanidinimo gauta oda, yra nuspaudžiama, pašalinant vandens perteklių, skeliama, neutralizuojama, drožiama ir dažoma. Tačiau odą sudėtinga nudažyti dėl anizotropinės žaliavos prigimties. Tinkamas odos apdorojimas po tanidinimo ir tinkamas dažų pasirinkimas yra būtinas norint gauti vienodą spalvą ir geresnį dažo pasisavinimą. Įrodyta, jog skirtingų tipų dažai turi skirtingą adsorbcijos koeficientą dėl kurio gali kilti problemų siekiant gauti lygų atspalvį. Toks diferencinis odos dažymas yra susijęs su įvairiu giminingumu odai ir dažų skirtingumu. Dažų elgseną pirmiausiai lemia įkrovos charakteristikos, tiek naudojamo dažo, tiek dažomos odos [30].

Fermentų naudojimas dažymo procese, gali padidinti dažų poveikį odai. Kolagenas yra atsparus visiems fermentams išskyrus kolagenazę. Kolagenazės – metaloproteazių klasės fermentai, kurie gali būti randami įvairiuose šaltiniuose. Kadangi oda yra sudaryta iš kolageno baltymo, manoma, jog kolagenazė gali padidinti katalitinį aktyvumą baltymo matricoje, taip pagerinant dažymo procesą. Bakterinė kolagenazė pirmiausiai skaido X-Gly ryšį, esantį -Gly-Pro-X-Gly-Pro-X nepoliniuose molekulės segmentuose. Todėl oda, apdorota kolagenazėmis, turi atsparumą kitų klasių fermentų poveikiui. Gerai žinoma, jog tanidinta oda reagentais, kurių dėka susidaro skersiniai ryšiai, pasižymi atsparumu kolagenazių poveikiui, todėl kolagenazės nehidrolizuoja chromintos odos, tačiau atveria kolageno matricas, taip pagerinant dažymo procesą [31].

Taip pat, yra ištirtas odos dažymas naudojant rūgštines proteazes. Rūgštinių proteazių naudojimas dažyme remiamas tuo, jog fermentai elgiasi kaip biokatalizatoriai, atverdami kolageno fibriles ir taip pagerindami dažų difuziją į odos matricas, tuo pačiu didinant galimybes funkcinėms grupėms, esančioms matricoje, reaguoti su dažais, taip gerinant dažų įsisavinimą. Naudojant rūgštines proteazes rūgštinių dažų absorbcija siekė net 98 %. Dažant fermentiniu metodu reikalinga aktyvacijos

energija yra žemesnė, kadangi apdorojant fermentais padidėja dažų absorbcija, esant žemesnėje temperatūroje, taip sumažinant energiją ir laiką. Kadangi dažant fermentiniu metodu buvo pasiekta sodresnė spalva, yra galimybė optimizuoti dažymą, naudojant mažesnius dažų kiekius [32].

1.2.3. Fermentų panaudojimo privalumai ir trūkumai

Pramoninė biotechnologija pastaraisiais metais ypatingai daug dėmesio sutelkė į naujų procesų kūrimą, kuriuos taikant galima iš dalies pakeisti brangius chemikalus pigesniais [33]. Biotechnologinių procesų metu gauti fermentai yra bandomi odos pramonėje, kadangi jie gali reaguoti su odos komponentais, tokiais kaip kolagenas, keratinas, glikoproteinas riebalai ir kt. taip padėdami pašalinti nereikalingus komponentus odos apdorojimo metu [18].

Fermentų naudojimas pramonėje padeda sumažinti gamybos išlaidas, energijos sunaudojimą, atliekų susidarymą ir pagerina galutinio produkto kokybę. Tradiciniai cheminiai procesai dažniausiai yra nespecifiniai, ne visuomet lengvai kontroliuojami ir jiems dažniausiai reikalingos šurkščios aplinkos sąlygos (didelis slėgis, aukšta temperatūra ir kt.). Dažnai susiduriama su šalutiniais efektais ir (arba) susidariusiomis taršos problemomis. Naudojant fermentus galima reguliuoti procesą varijuojant fermento koncentracija, temperatūra ir laiku. Fermentų panaudojimas gali pakeisti chemikalus ar įvairius procesus, neigiamai veikiančius aplinką, taip pat, fermentų naudojimas gali užtikrinti saugesnes darbo sąlygas, kadangi apdirbimo metu eliminuojama cheminiai procesai [34].

Fermentai gali būti panaudojami ir valant nuotekas, susidariusias odų apdirbimo metu. Įprastai šias nuotekas apdoroti yra sudėtinga, kadangi jose yra daug kietųjų dalelių, sulfidų ir chromo junginių, o taip pat nuotekos pasižymi dideliu cheminio ir biocheminio deguonies poreikiu. Apdorojant nuotekas vietoj naudojamų tradicinių metodų dėl savo universalumo ir efektyvumo gali būti naudojamas fermentinis metodas [35].

Fermentai, tiek viduląsteliniai, tiek ekstraląsteliniai, gali būti naudojami kaip nuotekų valymo priemonės, kadangi jie yra specifiniai ir labai efektyvūs katalizatoriai, gebantys selektyviai skaidyti teršalus, nedarant įtakos kitiems komponentams, esantiems nuotekose. Būtent dėl to, fermentinis apdorojimas tinkamas nuotekoms, kuriose yra santykinai didelis teršalų kiekis. Kitas enzymų privalumas nuotekų valyme – fermentai veikia esant švelnioms aplinkos sąlygoms. Dėl šios priežasties, enzimai pralenkia įprastinius katalizatorius (pereinamuosius elementus tokius kaip Cu, Ni). Taip pat, fermentai yra labiau priimtini dėl savo bioskaidumo, jų naudojimas mažina neigiamą poveikį aplinkai, jie gali būti naudojami ekologiškose teršalų apdorojimo metoduose [35].

Fermentų naudojimas plikimo metu gali ne tik pakeisti kenksmingas aplinkai chemines medžiagas, bet ir pagerinti tam tikras odos savybes. Pavyzdžiui, plikint naudojant fermentus oda geriau pasisavina dažą, lyginant su įprastinai plikinta oda. Fizinių savybių pablogėjimas neužfiksuotas [18].

Tačiau fermentai vis dar yra per brangūs dėl didelių gamybos kaštų, lyginant juos su chemiškai sintetintais produktais. Žaliavų (substratų) kaina yra aukšta, taip pat bioprocesų technologija reikalauja didžiulio kiekio švaraus vandens, taip didinant vandens trūkumą. Antra, daugumą fermentacijos procesų sudaro daugybė nenutrūkstamų žingsnių, kurie yra būtini, norint užkirsti kelią mikrobiologiniam užterštumui, o tai sąlygoja mažą produkto susidarymo išeią. Galiausiai mikrobiologiškai švaraus fermentacijos proceso palaikymas yra labai sudėtingas, todėl didėja ir biokatalizatoriaus gamybos kaina. Kad pramoninė biotechnologija taptų tokia pat konkurencinga kaip chemijos pramonė, būtina vykdyti tolimesnius darbus fermentacinės technologijos plėtojimui [32].

Kita problema, su kuria susiduriama naudojant fermentus, yra fermentų aktyvumas apdorojimo metu. Nors atlikta daugybė tyrimų, kuriuose buvo ištirtas fermentų efektyvumas, odininkai vis dar dvejoja naudoti proteolitinius fermentus dėl jų kokybės ir naudojamų proteazių nestabilumo, dėl kurio plikininimas ar kiti apdorojimo procesai gali būti neefektyvūs [18].

Plikinimo metu susiduriama su problema, jog dėl savo proteolitinio aktyvumo, fermentas veikia ne tik norimas vietas, tokias kaip epidermį, plaukų folikulus ir pagrindinę membraną, bet gali pažeisti ir kolageno pluoštinę struktūrą, kuri yra pagrindinė odos dalis [19].

Kitas fermentinio proceso panaudojimo trūkumas – lėta enzimo difuzija. Pagal Yates tyrimus, maždaug 70 % viso plikininimo laiko užėmė naudojimo fermento skverbimasis į folikulus, kuriuose ir yra vykdomas fermentinis plikininimas [18].

1.3. Odos tanidinimas chromo junginiais

1.3.1. Tanidinimo chromo junginiais tikslas ir mechanizmas

Tanidinimas – gyvūnų odos apdorojimo procesas, kurio metu yra gaunama išdirbta oda, pasižyminti patvarumu ir atsparumu įvairiems aplinkos poveikiams [34]. Tanidinimo proceso metu neapdirbtos odos baltymai paverčiami į stabilią fibrilinę struktūrą (išdirbtą odą), kuri tampa atspari mechaniniams poveikiams ir gali būti panaudojama įvairiems tikslams. Tanidinimas yra negrįžtamas procesas, kurio metu baltymai yra stabilizuojami vykdant reakcijas su neorganiniais ir organiniais reagentais, esant tam tikroms aplinkos sąlygoms [35]. Naudojamus reagentus galima suskirstyti į kelias pagrindines grupes:

- mineraliniai reagentai;
- augaliniai tanidai;
- sintanai
- aldehydai
- naftos produktai.

Odos pramonėje didžioji dalis odų 80–90 % yra tanidinama chromo junginiais [36]. Chrominimas šiuo metu yra dažniau taikoma technologija odų pramonėje, kadangi ji universalesnė ir jos metu gaunami produktai su geresnėmis fizikinėmis ir cheminėmis savybėmis, nei naudojant augalų tanidus ir gaunama minkštesnė ir geresnės kokybės karvės oda su vienoda tekstūra. Cr (VI) anksčiau taip pat buvo naudojamas chrominimui, tačiau dėl savo toksiškumo ir žemesnės Cr (III) kainos, nebenaudojamas [37].

Įprastinį chrominimo procesą sudaro trys fazės: pikeliavimo, chrominimo ir bazingumo kėlimo [34].

Prieš odos chrominimą dažniausiai yra atliekamas tarpinis pikeliavimo procesas. Jo metu dermos struktūra vienodai išskirstoma chemiškai ir fiziškai, taip apsaugant odą nuo per greito chromo junginių prisijungimo ir nulemiant tolygesnį jų pasiskirstymą kolageno matricoje. Druskos, dažniausiai natrio chloridas, o kartais natrio sulfatas ir organinių rūgščių druskos, tokios kaip natrio formiatas ir natrio acetatas, yra naudojamos apsaugoti kolageną rūgštinėje terpėje nuo išbrinkimo. Rūgštis apdorojimas sumažina neigiamą karboksilinių grupių krūvį ir padidina kolageno peptidų amino grupių teigiamą krūvį, taip suteikiant plikei teigiamą krūvį. Krūvis sudaro atstumiantį/hidrofobinį efektą, padidinant tarpus tarp kolageno peptidų, dėl kurio ir vyksta kolageno brinkimas. Taip pat, apdorojant rūgštimis, konglutinacija ir skersiniai ryšiai esantys kolageno fibrilėse

dalinai suardomi ir baltymo stabilumas susilpninamas. Išbrinkimas ir skersinių ryšių suardymas gali būti išvengiamas, jeigu yra pridėdama neutralių druskų. Išankstinis druskų pridėjimas į pikeliavimo tirpalą padidina jonų koncentraciją, kuri lemia aukšto osmosinio slėgio susidarymą. Esant aukštam osmosiniam slėgiui, vandens migracija iš kolageno vidaus į išorę padidėja, todėl sumažėja jonų koncentraciją tirpale. Tokiu būdu padidėja druskos ir rūgšties jonizacija. Susidarę jonai, esant osmosiniam slėgiui, įsiskverbia į kolageną, taip priverčiant karboksilines grupes tapti pasyviomis, o amino grupes sudaryti amino druskas. Būtent dėlto yra išvengiama kolageno brinkimo [38].

Plikė pikeliavimo metu dažniausiai yra druskos tirpale parūgštinama sieros ir skruzdžių rūgšties mišiniu, kurio kiekis yra 1,0–1,8 % nuo odos svorio. Pikeliavimo tirpale esanti natrio chlorido koncentracija turi būti ne mažesnė nei 6 %, kadangi tokios koncentracijos tirpale apdorojama oda yra apsaugoma nuo joje esančio kolageno išbrinkimo, galinčio atsirasti nuo rūgšties. Pikeliavimo pabaigoje tirpalo pH reguliuojamas iki 2,5–3,0, norint modifikuoti karbonilinių grupių reakingumą, taip pasiekiant efektyvesnę chromo įsiskverbimą į vidinę šikšnos dalį ir užkertant kelią susidaryti chromo junginiams paviršiuje šiurkštiems grūdeliams odos paviršiuje [34].

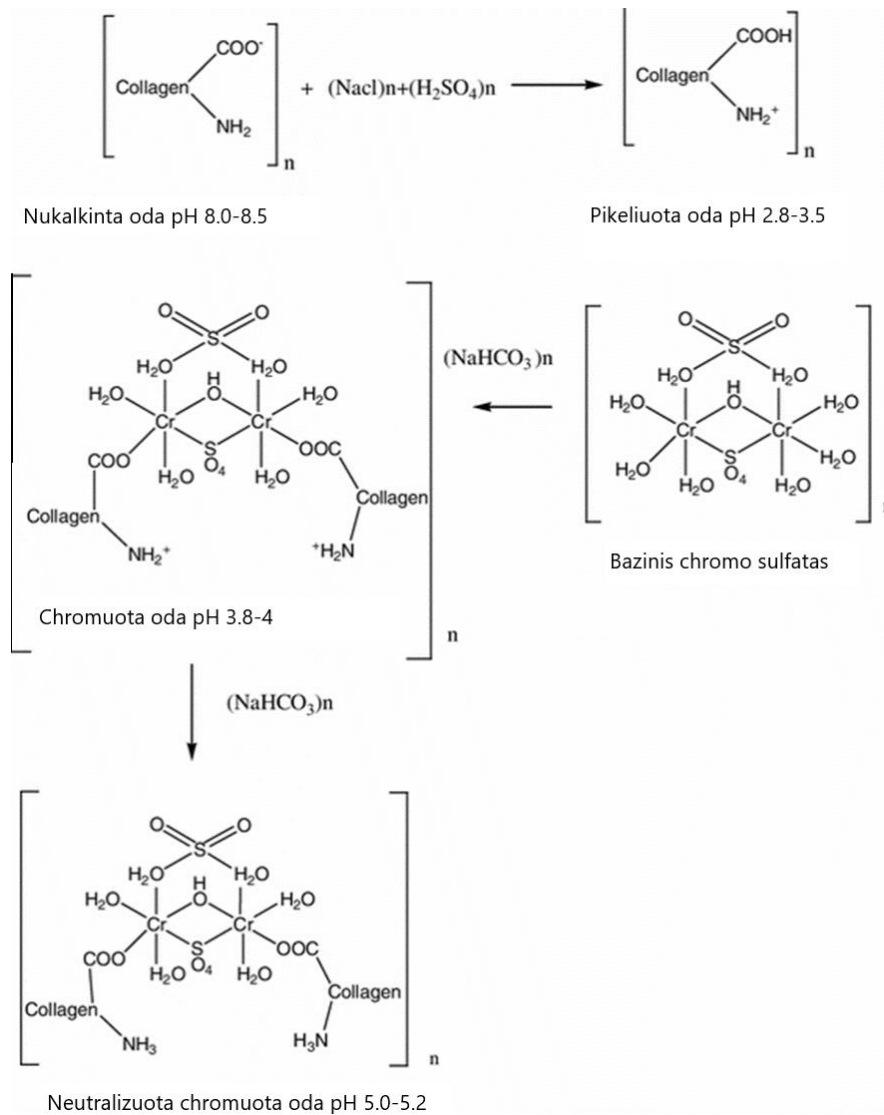
Pats svarbiausias procesas yra tanidinimas. Jo metu gaunamos stabili fibrilių struktūra, kuri gali apsaugoti nuo bakterinio poveikio. Dažniausiai naudojamas bazinis chromo sulfatas, kurio bazingumas yra 33 %. Deja, vidutinis chromo junginių sunaudojimas chrominimo metu yra tik apie 60 % nuo chrominti naudojamo kiekio. Kasmet odos pramonėje susidaro maždaug 40000 tonų bazinio chromo sulfato atliekų. Chromas, druskoje naudojamoje chrominimo procese ($\text{Cr}(\text{OH})\text{SO}_4$), yra trivalentis, bet, kai kuriais atvejais, trivalentis chromas gali virsti į šešiavalentį [39].

Sąveika tarp tanidinimo medžiagų ir kolageno prisideda prie kolageno fibrilių struktūros stabilizavimo. Bazinis chromo sulfatas yra apibrėžiamas kaip trivalenčio Cr kompleksų mišinys, kur du ar daugiau chromo atomai prijungti deguonies ir (ar) hidroksilo tilteliais turi skirtingą prisijungusių sulfato jonų skaičių. Oligomerų tiltų susidarymas gali būti paaiškinamas trimis etapais [35].

Didėjant pH, padidėja chromo junginių bazingumas ir sulfato jonai dalinai pakeičiami hidroksido jonais ir chromo junginiai gali asocijuoti vienas su kitu per antrines traukos jėgas esančias OH^- grupėse. Tokiu būdu odos baltymai įgauna giminingumą chromo junginiams ir gali susidaryti skersinis ryšys tarp gretimų baltymų grandinių [35].

Apskritai, chromo skersinių ryšių sudarymas su polipeptidine grandine įvyksta per koordinacinį ryšį su karboksilinėmis kolageno grupėmis. Trivalentis chromas Cr (III) turi savybę agreguotis ir suformuoti tiltelius su oligomerais, kurie pasižymi mažesniu tirpumu, taip padidėjant chromo pasisavinimui. Be to, pradinė chrominimo reakcija yra valdoma afininėmis laisvomis karboksilinėmis grupėmis. Šiek tiek pašarmėjus terpei, padidėja odoje esančių karboksilo grupių jonizacija. Šios jonizuotos karboksilo grupės yra traukiamos chromo atomų. Kuomet karboksilo grupė yra nejonizuota, trauka tarp baltymo ir chromo atomo yra nedidelė. Chromo prisitvirtinimas prie baltymo didėja, didėjant karboksilo grupių jonizacijai [35].

Kuomet chromo junginiai pilnai įsiskverbia į odą, vykdomas bazingumo kėlimas, kurio metu siekiama neutralizuoti rūgštis ir didinti chromo ir kolageno sąveiką. Natrio hidrokarbonatas ir magnio oksidas dažnai naudojami kaip šarminimo agentai, norint pasiekti 3,8 – 4,2 pH. Esant tokiai tirpalo terpei, didėja chromo ir karboksilo grupių jungimasis, taip susidaro pakankamas kiekis skersinių ryšių tarp chromo ir kolagenų fibrilių [35].



1.1 pav. Chrominimo mechanizmas [40]

1.3.2. Chrominimo modifikavimas

Chromo turinčių nuotekų ir atliekų apdorojimas, laikymas ir pašalinimas yra didžiulis iššūkis. Šiuo metu atrandama vis daugiau chrominimo modifikavimo būdų, tokių kaip chrominimo parametrų gerinimas, chrominimo reagentų modifikavimas, kolageno modifikavimas, pagalbinių ir (arba) kombinuotų medžiagų naudojimas. Pasitelkus naujus metodus bandoma užkirsti kelią techninėms ir aplinkosaugos problemoms, kurios atsiranda įprastinio chrominimo metu [41].

Įprastinis tanidinimas reikalauja naudoti apie 8–10 % druskos, nuo odos masės. Toks druskos kiekis sąlygoja didelį tirpalo druskingumą, didelį nuotekų užterštumą natrio chloridu, taip pat didelį kiekį neįsisavintų chromo junginių. Nekontriuojamas chromo junginių kiekis chrominimo tirpale didina aplinkos užterštumą, taip pat kelią riziką sveikatai. Chromo junginiai patekę į dirvą ir vandenį gali būti pernešami įvairiose aplinkos terpėse, per įvairius transportavimo procesus, kurių metu junginiai gali būti žmonių įsisavinami ir (arba) įsisavinami kitų ekologinių receptorių [42].

Vienas iš efektyvių būdų norint sumažinti užterštumą natrio chloridu – pikeliavimas nenaudojant druskų arba pikeliavimas naudojant mažą druskų kiekį. Tokio proceso metu naudojamos

nesukeliančios brinkimo rūgštys, daugiausiai aromatinės sulfoninės rūgštis, kuriomis pakeičiamos skruzdžių ir sieros rūgštys. Taip pat, yra pašalinamas arba sumažinamas natrio chlorido kiekis. Tyrimų metu nustatyta, kad pakeitus pikeliavimo procesą natrio chloride 80 %, tam tikrais atvejais chromo įsisavinimas padidėja [34].

Tačiau pikeliavimas nenaudojant druskų arba pikeliavimas naudojant mažą druskų kiekį dar nėra plačiai taikomas, kadangi naudojant aromatinės sulfoninės rūgštis reikalingas didelis jų kiekis ir, kad pH būtų pasiekęs 3,0. Didelis rūgščių naudojimas neigiamai paveikia išdirbtos odos savybes, tokias kaip spalva, lankstumas ir švelnumas, o taip pat nuotekose esantis chromo junginių kiekis yra didesnis nei 500 mg/L. Pagrindinė problema chrominimo procesuose, kuriuose praleidžiamas pikeliavimas, yra per greitas ir per didelis chromo junginių pasiskirstymas odos paviršiuje, dėl kurio atsiranda chromo junginių įsiskverbimo sunkumų ir dėl kurio išdirbta oda sukietėja [34].

Būtent šiai problemai spręsti yra sukurta chrominimo modifikacijų, kuriose naudojama mažo bazingumo arba stipriai maskuoti chromo junginiai arba chrominimo pH yra mažinamas iki 5,0. Tokiuose procesuose dedamas įprastinis natrio chlorido kiekis (mažiausiai 6 % nuo kalkintos odos svorio), norint apsaugoti vidinius odos sluoksnius nuo rūgštinio brinkimo, atsirandančio dėl naudojamo mažo bazingumo chromo junginių ar pridėtos skruzdžių, ar sieros rūgšties [34].

Kitas būdas kaip sumažinti taršą chromo junginiais – naudoti chrominimo technologiją, kurioje chromo junginiai dalinai yra pakeičiami kitu tanidinimo agentu. Naudojant naujus reagentus, tikimasi suteikti išdirbtai odai tokias pat savybes kaip tanidinant chromu, ar net tam tikrais atvejais geresnes. Tačiau tinkamų reagentų parinkimas yra sudėtingas uždavinys, kadangi chromo junginiai puikiai veikia kaip tanidinimo agentas [43].

Pastaraisiais metais buvo tiriamas Tetrakis (hidroksimetil) fosfonio sulfatas $(HOCH_2)_4PCI$ kaip chrominimo alternatyva. Atlikti tyrimai parodė, kad ši medžiaga, kartu su kitų metalų junginiais, suteikia išdirbtai odai panašias savybes kaip chrominant chromo junginiais. Taip pat, yra ištirta galimybė naudoti tanidinimo sistemą, kuri remiasi tanidiniu chromo junginiais ir tetrakis (hidroksimetil) fosfonio sulfatu. Naudojamas chromo junginių kiekis – 2 %, THPS – 1,5 %. Gautas išdirbtos odos suvirimo temperatūra $110 \pm 0,2$ °C, o stiprio charakteristikos atitinka standarto normas [43].

Dar viena chrominimo modifikavimo alternatyva – chromo junginių didesnio sunaudojimo technologija. Ji taikoma esant didesnėms pH vertėms, praleidžiant pikeliavimo procesą. Ši alternatyva sumažina chromo junginių kiekį atliekose ir pastaraisiais metais tampa ypatingai perspektyvi. Tačiau, technologija vis dar nėra tiesiogiai taikoma pramoniniuose procesuose dėl galimos rizikos, jog chromo junginiai nepilnai įsiskverbs į odą ir galimai nusės ant odos paviršiaus dėl aukštos pradinės pH vertės, taip darydami neigiamą įtaką galutinio produkto kokybei [41].

Tiriant chromo junginių didesnio sunaudojimo technologiją, buvo vykdomi bandymai lyderiaujančioje Turkijos odų apdirbimo kompanijoje. Išdirbimas buvo vykdomas be pikeliavimo proceso, naudojant mažesnę kiekį chromo druskų ir esant didesnėms pH vertėms. Bandymo metu metodas buvo pritaikytas pramoniniu mastu ir nustatyta, jog chromo junginių kiekis likęs tirpaluose gali būti sumažintas iki 99,5 %, lyginant su įprastiniu tanidiniu. Kartu su sumažėjusiu chromo junginių kiekiu nuotekose, šis metodas turi daug privalumų, kadangi nuotekos lengviau valomos, įrenginiai yra mažiau apkrauti, o gautas dumblas gali būti panaudojamas kaip kompostas [41].

Chrominimo proceso modifikavimui, taip pat, yra ištirta technologija, kurios metu kartu su chromo junginiais naudojama galo rūgštis. Galo rūgštis yra fenolinė rūgštis, kurios aromatiniam žiede yra viena karboksilinė ir trys hidroksilinės grupės, dėl kurių junginys pasižymi rūgštinėmis (protono donorinėmis) savybėmis ir gali formuoti joninius ryšius (druskų tiltelius), taip pat, šios grupės gali funkcionuoti kaip H-ryšys arba padėti formuoti H-ryšius. Chromo junginių didelio sunaudojimo technologija kartu su galo rūgštimi gali sumažinti kietųjų atliekų nuotekose susidarymą [40].

Remiantis tyrimo rezultatais nustatyta, jog chromo junginių sunaudojimo technologijoje naudojant galo rūgštį padidėja chromo absorbcija. Absorbcija gali būti sustiprinama dėl papildomų karboksilinių grupių. Galo rūgšties panaudojimas efektyviai padidina chromo (III) junginių absorbciją, tačiau pakeičia pačio tanidavimo proceso mechanizmą. Tanidinant kartu su galo rūgštimi padidėja odos termostabilumas, gerėja mechaninės savybės, didėja chromo junginių sunaudojimas, susidaro didesnis kiekis skersinių ryšių [40].

Šiuo metu vienas iš komerciškai pritaikomų metodų, kuris leidžia kontroliuoti neutralių druskų ir taip pat chromo junginių kiekį nuotekose yra pakartotinis chrominimo tirpalo panaudojimas pikeliavimo procese. Didelis tirpalo druskingumas leidžia panaudoti gautą tirpalą pikeliavimui. Tačiau pakartotinio tirpalo surinkimas perdirbimui yra sudėtingas. Įvairūs priedai, tokie kaip dikarboksilinė rūgštis, silikatai, poliakrialai buvo bandyti pritaikyti tanidavimo procesuose, remiantis tuo, jog šios medžiagos didina chromo junginių sunaudojimą. Tačiau, dauguma priedų sukėlė nevienodą chromo pasiskirstymą odoje ir kartais druskų atsiradimą odos paviršiuje [42].

1.3.3. Chrominimo įtaka išdirbtos odos savybėms

Po odos tanidavimo atsiranda tam tikri išskirtiniai bruožai. Pirmiausiai, oda tampa atspari puvimui ir trūkinėjimui, yra žinoma, kad kai kurie odos artefaktai, kuriems yra per tūkstantį metų, vis dar yra išlikę. Taip pat, tanidinta oda bus minkštesnė nei neapdirbta, dažnai turės tipinę spalvą ir kvapą. Ji pasižymi ženkliai aukštesne suvirimo temperatūra, nei neapdorota. Padidėjusi suvirimo temperatūra yra susijusi su odos transformacija, kuri matuojama atsparumui drėgnam karščiui (hidroterminiam atsparumui) [17].

Chrominta oda pasižymi nedideliu svoriu (lengvumu) ir dideliu atsparumu tempimo jėgai. Taip pat, chrominimo metu pagerėja fizikinės ir mechaninės savybės, kurios lemia odos kokybę. Šie pagerėjimai yra susiję su tinklinių ryšių sudarymu tarp chromo ir polipeptido grandinių per koordinacinius ryšius su kolageno fibrilių aminorūgščių šoninėmis grandinėmis. Tačiau tik chrominta oda pasižymi pilnumo trūkumu ir šiurkščiu išviršiniu paviršiumi [44].

Būtent dėl šių priežasčių chrominimas vis dar yra pagrindinis odos išdirbimo procesas. Tačiau dėl vis didėjančio susirūpinimo aplinkos apsauga, būtina ieškoti naujų metodų, kurie galėtų sumažinti įprastinio chrominimo metu susidarancius teršalus. Vienas iš tokių būdų – fermentų pritaikymas odų chrominimo procesuose.

Dėl savo selektyvumo ir veikimo, esant švelnioms aplinkos sąlygoms, fermentai pramoniniu būdu jau yra pritaikomi minkštiniame, taip pat plačiai ištirtas panaudojimas plikavimo, nuriebalinimo procesuose. Norint pritaikyti enzimus kituose odų apdirbimo procesuose, reikalingi tolimesni tyrimai. Nustačius fermentų poveikį pikeliavimo ar chrominimo procesuose, būtų galima gautus rezultatus pritaikyti tolimesniems tyrimams, švaresnio chrominimo proceso tobulinimui.

2. Medžiagos ir tyrimų metodai

2.1. Tyrimo objektas ir naudotos medžiagos

Tyrimams naudojama galvijų oda (karvės oda, svorinė kategorija 20–22 kg) konservuota sūdymu. Eksperimentams atlikti, naudoti odos bandiniai, išpjauti iš kruponinės dalies, kurie yra apdorojami pagal kitame poskyryje pateiktą metodiką.

Tyrimo naudotos medžiagos ir techniniai produktai pateikti 2.1 ir 2.2 lentelėse.

2.1 lentelė. Cheminiai reagentai

Medžiagos pavadinimas	Cheminė formulė	Medžiagos grynumas
Acto rūgštis	CH ₃ COOH	p.a./G.R. 99 %
Orto fosforo rūgštis	H ₃ PO ₄	p.a./G.R. 85 %
Boro rūgštis	H ₃ BO ₃	p.a./G.R. 99 %
Natrio šarmas	NaOH	Chemiškai švarus, 99 %
Kazeinatas	-	Chemiškai švarus
Trichloracto rūgštis	C ₂ HCl ₃ O ₂	p.a./G.R. 99 %
Tirozinas	C ₉ H ₁₁ NO ₃	Chemiškai švarus
Drusko rūgštis	HCl	p.a./G.R. 36,5 %
Aktyvuota anglis	C	-
Vario sulfatas	CuSO ₄	p.a./G.R. 99 %
Vandenilio peroksidas	H ₂ O ₂	p.a./G.R. 30 %
Karbamidas	CH ₄ N ₂ O	p.a./G.R. 99,5 %
Sieros rūgštis	H ₂ SO ₄	p.a./G.R. 96 %
p-dimetilaminobenzaldehydas	(CH ₃) ₂ NC ₆ H ₄ CHO	p.a./G.R. 99 %
Izopropilo alkoholis	C ₃ H ₇ OH	p.a./G.R. 99,7 %
Natrio karbonatas	Na ₂ CO ₃	p.a./G.R. 99 %
Natrio floursilikatas	Na ₂ [SiF ₆]	p.a./G.R. 99 %
Kalcio hidroksidas	Ca(OH) ₂	Chemiškai švarus, 99 %
Natrio sulfidas	Na ₂ S	p.a./G.R. 60 %
Amonio sulfatas	(NH ₄) ₂ SO ₄	Chemiškai grynas, 99,9 %
Natrio chloridas	NaCl	p.a./G.R. 99,9 %
Natrio formiatas	HCOONa	p.a./G.R. 99 %
Natrio hidrokarbonatas	NaHCO ₃	p.a./G.R. 99 %
Azoto rūgštis	HNO ₃	Analitiškai švari, 70 %
Perchlorato rūgštis	HClO ₄	ACS reagentas, 60–70 %
Natrio Tiosulfatas	Na ₂ S ₂ O ₃	p.a./G.R. 99 %
Kalio jodidas	KI	p.a./G.R. 99,5 %
Nikelio sulfatas	NiSO ₄	p.a./G.R. 99 %
Dichlormetanas	CH ₂ Cl ₂	ACS reagentas

2.2 lentelė. Techniniai produktai

Medžiagos pavadinimas	Gamintojas
FP <i>Oropon ON2</i>	<i>Röhm GmbH & Co</i> , Vokietija
Chromo ekstraktas „ <i>Chroma</i> “, Bazingumas 33 %	<i>Boruta</i> , Lenkija
<i>Neutragene M6-120</i> (chromo junginių bazingumui didinti)	<i>Codeyco</i> , Italija
Dažas <i>Sellaset rot H</i>	<i>TFL Ledertechnik GmbH</i> , Vokietija
Oleal 146	<i>Codeyco</i> , Italija
Oleal 1946	<i>Codeyco</i> , Italija
Phospholicker 661	<i>Codeyco</i> , Italija
Phospholicker 6146	<i>Codeyco</i> , Italija
Skrudžių rūgštis	<i>Eurochemicals</i> , Lietuva
Mimozos tanidai	<i>Tanac S.A.</i> , Brazilija
Kvebracho tanidai	<i>Tanac S.A.</i> , Brazilija
Lithudac L	<i>FGL International</i> , Italija
Zime SB	<i>River Chimica</i> , Italija
Žibalas	<i>Eurochemicals</i> , Lietuva
Krakmolos	<i>Amilina</i> , Lietuva

2.2. Bandinio paruošimas

Prieš atliekant pikeliavimo ir chrominimo procesus, odos bandiniai turi būti plaunami, atmirkomi, plikomi ir minkštinami. Šie procesai atlikti pagal įprastą odų avalynės viršui išdirbimo technologiją. Atitinkamų procesų parametrai pateikti 2.3 lentelėje.

2.3 lentelė. Paruošiamieji procesai

Procesas	Proceso parametrai		
	Medžiaga ir jos kiekis (%), nuo žaliavos masės	Temperatūra, °C	Proceso trukmė, pastabos
Plovimas	H ₂ O – 200	18–22	1 h, proceso pabaigoje tirpalas nupilamas
Atmirkymas	H ₂ O – 160; Na ₂ CO ₃ – 1,4; Na ₂ SiF ₆ – 0,1	18–22	24 h, proceso pabaigoje tirpalas nupilamas
Kalkinimas plikinimas	1) H ₂ O – 100	18–22	30 min
	2) Ca(OH) ₂ – 2,3; Na ₂ S ₂ (60 %) – 2		1 h
	3) Ca(OH) ₂ – 2,3		1 h
	4) H ₂ O – 100		24 h, proceso pabaigoje tirpalas nupilamas
Plovimas	1) H ₂ O – 200	37±1	30 min, tirpalas nupilamas
	2) H ₂ O – 200	37±1	30 min, tirpalas nupilamas

Nukalkinimas- minkštėjimas	1) H ₂ O – 40; (NH ₄) ₂ SO ₄ – 2	37±1	30 min
	2) (NH ₄) ₂ SO ₄ – 2		30 min, pH patikrinamas fenalftaleinu
	3) H ₂ O – 100; Oropon ON2 – 0,15		1 h, proceso pabaigoje tirpalas nupilamas
Plovimas	1) H ₂ O – 200	20–22	20 min, tirpalas nupilamas
	2) H ₂ O – 200	20–22	20 min, tirpalas nupilamas

Paruošiamųjų procesų metu maišoma nepertraukiamai.

Po paruošiamųjų procesų atliekamas pikeliavimas. Pikeliavimas vykdomas naudojant skirtingus skysčio koeficientus:

a) vandens kiekis 80% nuo plikės masės;

b) vandens kiekis 40% nuo plikės masės.

Taip pat, pikeliavimo metu naudoti skirtingi fermentiniai preparatai – Lithudac L ir Zime SB, ir skirtingos šių preparatų koncentracijos, norint įvertinti preparatų bei koncentracijų įtaką pikeliavimo, chrominimo procesams.

Viso pikeliavimo metu maišoma nepertraukiamai. Pikeliuota oda toliau chrominama. Chrominimas atliekamas pikeliavimo tirpale, pastoviai maišant.

2.4 lentelė. Pikeliavimas ir chrominimas

Procesas	Proceso parametrai		
	Medžiaga ir jos kiekis (%), nuo plikinto bandinio masės	Temperatūra, □	Proceso trukmė
Pikeliavimas	1) H ₂ O – 40 arba 80; NaCl – 6	20–22	15 min
	2) HCOONa-1		20 min
	3) H ₂ SO ₄ -1,5		15 min
	4) H ₂ SO ₄ -1,5		15 min
	5) H ₂ SO ₄ -1,5		5,5 h
Chrominimas	1) <i>Chromal</i> – 6	50	20 h
	2) <i>Neutragene MG-120</i> – 0,35		2 h
	3) H ₂ O – 100	50	2 h, proceso pabaigoje tirpalas nupilamas
	4) H ₂ O – 100	50	1 h

Proceso pabaigoje tirpalas nupilamas, chromintas pusgaminis ištiestas ir išlygintas paliekamas 24 val. atsigulėti. Po atsigulėjimo vykdomi šlapios apdailos procesai (žiūrėti 2.5 lentelę).

2.5 lentelė. Šlapios apdailos procesai

Procesas	Proceso parametrai		
	Medžiaga ir jos kiekis (%), nuo chrominto pusgaminių masės	Temperatūra, °C	Proceso trukmė, pastabos
Plovimas	H ₂ O – 150	35	30 min, pabaigoje tirpalas nupilamas
Neutralizavimas	H ₂ O – 150; NaHCO ₃ – 1,5		30min
	HCOONa – 2		90 min
Proceso pabaigoje oda įpjaunama ir patikrinama metilo raudonių, pjūvis turi nusidažyt geltonai, jei ne procesas tęsiamas: HCOONa – 1, trukmė 1 h; HCOONa – 0,75, trukmė – 30 min. Proceso pabaigoje vėl tikrinama metilo raudonių.			
Plovimas	H ₂ O – 200	60–65	30 min, pabaigoje tirpalas nupilamas
Dažymas	H ₂ O – 200, dažas-Sellaset rot H – 1,5	60	1 h, prieš įdedant dažas tirpinamas vandenyje, santykiu 1:20. Proceso pabaigoje tirpalas nupilamas.
Riebinimas	1) H ₂ O – 100; Oleal 146 – 2; Oleal 1946 – 4; Phospholicker 661 – 3; Phospholicker 6146 – 4		90 min
	2) HCOOH		30 min, pabaigoje tirpalas nupilamas
Plovimas	1) H ₂ O – 200	30	15 min, pabaigoje tirpalas nupilamas
Pripildymas	1) H ₂ O – 100; Mimoza – 2; Kvebrachas – 2		1 h, pabaigoje tirpalas nupilamas
Plovimas	1) H ₂ O – 200		15 min
Proceso pabaigoje tirpalas nupilamas, išdirbta oda džiovinama kambario temperatūroje, ištiesus			

Procesų metu maišoma nepertraukiamai. Pikeliuoti, chrominti ir įriebinti bandiniai tiriami metodais, nurodytais tolimesniuose poskyriuose.

2.3. Fermentų aktyvumo nustatymas

Fermentų aktyvumas nustatomas Ansono metodu [45].

Rūgštinėms proteazėms, pH 2,5±0,2; 5,5±0,2; 7,2 ±0,2; 8,5±0,2; 10,0±0,2

Fermentinio preparato tirpalo paruošimas. 0,1–1,0 g fermento (0,001 g tikslumu) ištirpinti stiklinėje, maišant stikline lazdele, nedideliame kiekyje universalaus buferio 0,1 mol/l koncentracijos, kurio pH 2,5 / 5,5 / 7,2 / 8,5 / 10. Gautą tirpalą kokybiškai pernešti į matavimo kolbą (100 ml) ir praskiesti universaliu buferiu iki žymos. Tolimesniems skiedimams naudojamas universalus atitinkamos pH (koncentracija 0,1 mol/l) buferis.

2,5 pH natrio kazeinato tirpalo (2 %) paruošimas. 2 g orasausio natrio kazeinato (0,01g tikslumu) ištirpinti 90 ml universalaus buferio (koncentracija 0,1 mol/l, pH 5,5) ir priversti NaOH (1mol/l) tirpalu iki pH 5,5. Po to, naudojant HCl 1mol/l, pH sumažinti iki 2,5. Tirpalą pernešti į matavimo kolbą (100 ml) ir praskiesti iki žymos universaliu buferiniu tirpalu (0,1 mol/l, pH 2,5).

Rūgščioje terpėje, esant mažiau nei 5,1 pH stebimas tirpalo susidrumstimas, pasiekus 4,5 pH iškrenta stambūs dribsniai. Žemėjant pH 3,1–3,2 dribsniai pradeda tirpti, prie 3,0–3,05 pH susidarę dribsniai ištirpsta.

pH 5,5 / 7,2 / 8,5 / 10 natrio kazeinato tirpalo (2 %) paruošimas. 2 g orasausio natrio kazeinato (0,01 g tikslumu) ištirpinti 90 ml universalus buferio (koncentracija 0,1 mol/l, pH 5,5 / 7,2 / 8,5 / 10) ir privesti NaOH (1 mol/l) tirpalu iki atitinkamo pH. Po to, tirpalą pernešti į matavimo kolbą (100 ml) ir praskiesti iki žymos universaliu buferiniu tirpalu (0,1 mol/l, pH 5,5 / 7,2 / 8,5 / 10).

Pagreitinti natrio kazeinato tirpumui tirpalą galima maišyti magnetine maišykle ir pašildyti iki 70±1 °C. Tirpalas laikomas šaldytuve iki 2 dienų.

Analizės atlikimas. Į 2 kolbas įpilama po 2 ml substrato ir patalpinama į termostatą (30,0±0,2 °C). Maždaug po 10 min į abu mėgintuvėlius pridedama po 4ml trichloracto rūgšties 0,3mol/l, kad nutraukti fermentinę reakciją ir nusodinti baltymą bei hidrolizės reakcijos produktus. Mišinys greit permaišomas ir visiškam nusėdimui mėgintuvėlius su mišiniu išlaikyti 30 °C temperatūroje dar 20 min. tada filtruoti per mažus piltuvėlius su popieriniu filtru į sausus mėgintuvėlius. Filtratas turi būti skaidrus.

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

Kolorimetrinė analizė atliekama prie bangos ilgio 280nm, 1cm pločio kiuvetėse.

Proteolitinio aktyvumo (PA) vnt/g arba nt/ml apskaičiuojama pagal formulę (1):

$$PA = \frac{D \times 4}{TE \times 10 \times m} \times 1000, \quad (1)$$

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.

Gradavimo grafikas tirozino ekvivalentui (t.y. optinis tankis, kurį duotų 1µmol tirozino 1l standartinio tirpalo) pateiktas prieduose, 1 paveiksle.

Galutiniam rezultatui taikomas aritmetinis aktyvumo vidurkis (2 paralelių matavimų) ir kiekvieno po 3 pamatavimus. Galimas aktyvumo rezultatų pasiskirstymas neturi viršyti 5 % paklaidos.

2.4. Kolageninių baltymų kiekio nustatymas

Kolageninių baltymų kiekio nustatymas yra atliekamas pagal nurodytą metodiką [46].

Į porcelianinę lėkštelę pripilama 10 ml tiriamojo pikeliavimo tirpalo. Lėkštelės turinys yra išgarinamas virš vandens vonios. Sausas likutis yra suplaunamas po 10 ml 6 mol/l druskos rūgšties į sausą atsparų kaitinimui mėgintuvėlį (1,5–2 cm diametras, 15–20 cm ilgis). Mėgintuvėlis užlydomas (gaunama ampulė) ir dedamas į džiovinimo spintą bandinio hidrolizei. Hidrolizė vykdoma 120°C temperatūroje 6–10 val. (tikslinga palikti nakčiai).

Po hidrolizės ampulė atidaroma, į ją įberama apie pusė arbatinio šaukštelio aktyvuotos anglies, hidrolizatas supurtomas, toliau palaikoma apie 15 min. ramybėje ir filtruojama į porcelianinę lėkštelę (jei hidrolizatas po filtravimo yra rusvas, procedūrą su aktyvuota anglimi reikia kartoti). Ampulė praplaunama distiliuotu vandeniu tris kartus plovimo vandenį per filtrą surenkant į tą pačią porcelianinę lėkštelę.

Lėkštelės turinys išgarinamas virš vandens vonios. Sausas likutis suplaunamas distiliuotu vandeniu ir praskiedžiamas iki 25 ml (praskiedžiama priklausomai nuo tikėtino gauti rezultato). Gautas tirpalas filtruojamas ir naudojamas tolimesnei analizei.

Analizės atlikimas. Į du mėgintuvėlius įpilama po 1 ml nufiltruoto tiriamo tirpalo, o į kitus du - po 1 ml distiliuoto vandens. Į visus mėgintuvėlius įpilama po 0,5 ml 0,05 mol/l vario sulfato, po 0,5 ml 2,5 mol/l natrio šarmo tirpalo ir po 0,2 ml 4 % vandenilio peroksido tirpalo. Mėgintuvėliai 5 min. purtomi, po to 5 min. laikomi ramiai. Vėliau 10 min. laikomi 70±1 °C temperatūros vandens vonioje, retkarčiais supurtant. Išėmus iš vandens vonios mėgintuvėliai atvėsunami ir į juos įpilama po 0,5 ml 0,01 mol/l karbamido tirpalo, jie supurtomi ir paliekami 5–10 min. ramybės būklėj. Po to įpilama po 0,8 ml 8 N (4 mol/l) sieros rūgšties tirpalo bei po 2,5 ml 5 % p-dimetilaminobenzaldehido tirpalo izopropilo alkoholyje. Mėgintuvėliai 22 min. laikomi 70 °C temperatūros vandens vonioje, vėliau atvėsunami iki 20 °C ir fotokolorimetruojami. Optinis tankis matuojamas fotokolorimetru GENESYS 8 (Spectronic, JAV), esant bangos ilgiui 558 nm. Hidroksiprolino kiekis (HK) apskaičiuojamas remiantis kalibravimo kreive (priedai, 2 paveikslas), pagal formulę (2):

$$HK = \frac{D \times V \times A}{10 \times M \times 0.033} \times 1000, \quad (2)$$

čia, D – tirpalo optinis tankis; V – tūris tirpalo, gauto suplovus ir praskiedus porcelianinės lėkštelės turinį, ml; A – pikeliavimo tirpalo tūris; M – odos bandinio, paimto analizei masė, g; 0,033 – iš gradavimo kreivės rastas koeficientas optinio tankio vertei perskaičiuoti į hidroksiprolino koncentraciją, ml/g (gradavimo kreivė pateikta prieduose, 2 pav.);

Pagal gautą hidroksiprolino kiekį, kolageninių baltymų kiekis (KB1) absoliučiai sausoje odoje apskaičiuojamas taip:

$$KB1 = HK \times 7,8, \quad (3)$$

čia 7,8 – koeficientas hidroksiprolinui perskaičiuoti į kolageninius baltymus (daugkartiniais tyrimais nustatyta, kad raguočių odos kolagene yra 12,8 % hidroksiprolino).

Kolageninių baltymų kiekis (KB2) odoje apskaičiuojamas taip:

$$KB2 = \frac{KB1}{0.3}, \quad (4)$$

čia 0,3 – visiškai sausos odos kiekis bandinyje, įvertinus, jog odos drėgnis yra 70 %

Galutiniam rezultatui taikomas aritmetinis vidurkis (2 paralelių bandinių). Galimas kolageninių baltymų kiekio rezultatų pasiskirstymas neturi viršyti 5 % paklaidos.

2.5. Suvirimo temperatūros nustatymas

Suvirimo temperatūra nustatoma pagal nurodytą metodiką [47, 48].

Tyrimui atpjaunamos maždaug 3 mm pločio ir 5 cm ilgio tiriamosios odos juostelės. Juostelės pritvirtinamos specialiaje prietaise, iš abiejų galų taip, jog prietaise šviestų kontakto lemputė. Pritvirtinti bandiniai yra įmerkiami į indą su vandeniu ar glicerolio ir vandens mišiniu (priklausomai nuo galimos odos suvirimo temperatūros). Indas yra kaitinamas iki tam tikros temperatūros, kurioje odos matmenys sumažėja (susitraukia), kuomet kontakto lemputė užgęsta. Fiksuojama odos suvirimo temperatūra.

2.6. Chromo junginių kiekio odoje nustatymas

Cr₂O₃ kiekis odoje nustatytas pagal galiojantį standartą [49].

Tiksliai atsveriamą (užrašoma kaip m_o) 0,5–0,6 g išdirbtos odos (oda supjaustoma 2x 2 mm gabalėliais) ir sudedama į kūginę kolbą, kurios talpa 500 ml. Į ją supilama 10 ml koncentruotos azoto rūgšties (~ 70 %) ir paliekama stovėti 4–5 min. Supilama 15ml koncentruotų sieros (~96 %) ir perchlorato (60–70 %) rūgščių mišinio ir kolba dedamos ant kaitinimo plytelės ją uždengus piltuvėliu. Kaitinama vidutiniškai kaitriai kol reakcijos mišinio spalva pasikeičia iš žalsvos į oranžinę.

Vyksta reakcija: $14\text{Cr}(\text{OH})_3 + 6\text{HClO}_4 \rightarrow 3\text{Cl}_2 + 14\text{H}_2\text{CrO}_4 + 10\text{H}_2\text{O}$

Po to kaitinimas šiek tiek susilpninamas ir dar kaitinama mažiausiai 2 min. Kolba nuimama nuo plytelės ir vėsinama oro sąlygomis apie 10 min. Į kolbą įpilama apie 200 ml distiliuoto vandens ir ji vėl dedama ant kaitinimo plytelės. Kaitinama kol užverda ir leidžiama švelniai virti apie 10min. kol iš tirpalo pasišalina visas susidaręs chloras.

Atvėsinama ir įpilama 5 ml ortofosfato rūgšties (~90 %) geležies jonams maskuoti.

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

Vyksta reakcija: $2\text{H}_2\text{CrO}_4 + 6\text{KI} \rightarrow 3\text{I}_2 + 2\text{K}_3\text{CrO}_3 + 2\text{H}_2\text{O}$

Titruojama 0,1 mol/l koncentracijos natrio tiosulfato tirpalu tol, kol kolboje esančio tirpalo spalva tampa šviesiai žalsva.

Vyksta reakcija: $2\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 + \text{I}_2 \rightarrow \text{Na}_2\text{S}_4\text{O}_6 + 2\text{KI}$

Kaip indikatorius naudojamas 1 % koncentracijos krakmolo tirpalas. Užrašomas titravimui sunaudoto 0,1 mol/l koncentracijos natrio tiosulfato kiekis (ml).

Cr₂O₃ kiekis, (%) apskaičiuojamas taip:

$$\text{Cr}_2\text{O}_3 = \frac{V \cdot 0,00253 \cdot 100}{m_o}, \quad (5)$$

čia: V- titravimui sunaudoto 0,1 mol/l koncentracijos natrio tiosulfato kiekis, ml; 0,00253- Cr₂O₃ kiekis atitinkantis 1ml 0,1 mol/l koncentracijos natrio tiosulfato tirpalo, g/ml; m_o- išdirbtos odos kiekis, g.

2.7. Chromo junginių kiekio sunaudojimas

Cr₂O₃ koncentracija chrominimo tirpaluose nustatyta pagal metodiką [48].

Į kūginę 250 ml talpos kolbutę įpilama 5 ml tiriamo tirpalo, 10 ml 1 M NaOH tirpalo ir 4 ml 4 % H₂O₂ tirpalo. Kolba uždedama ant elektrinės plytelės ir tirpalas 3 min. virinamas. Nuėmus mėginį nuo elektrinės plytelės įpilama 5 ml 5 % NiSO₄ tirpalo ir virinama dar 3min. Baigus virinti į mėginį įpilama 20 % koncentruoto H₂SO₄ tirpalo tiek, kad nuosėdos pilnai ištirtų. Galiausiai įpilama 5ml 10 % KI tirpalo.

Bandinys titruojamas 0,1 N Na₂S₂O₃ tirpalu, naudojant 1 % krakmolo tirpalo indikatorių. Cr₂O₃ tirpale, g/l apskaičiuojamas taip:

$$Cr_2O_3 = \frac{a \cdot 0,002533 \cdot 1000}{V}, \quad (6)$$

čia: a- sunaudoto titruoti Na₂S₂O₃ tirpalo kiekis, ml; V- paimto analizei tirpalo kiekis, ml; 0,002533- Cr₂O₃ kiekis (g) atitinkantis 1ml 0,1 N Na₂S₂O₃ tirpalo.

Žinodami tirpale esančią chromo oksido koncentraciją, apskaičiuojamas chromo junginių sunaudojimas proceso metu:

$$S = 100 - \frac{m_1 \times 100}{m_0}, \quad (7)$$

čia m₁ – Cr₂O₃ kiekis chrominimo tirpale po proceso (g); m₀ – chrominti įdėtas Cr₂O₃ kiekis (g)

2.8. Odos akytumo nustatymas

Bandinio paruošimas. Odos akytumas (arba purumas) yra nustatomas po pikeliavimo ir chrominimo procesų. Bandinys akytumo nustatymui turi būti specialiai paruošiamas, jo struktūra yra užfiksuojama acetonu, kadangi įprastai džiūdama odos derma smarkiai keičiasi [48].

Tyrimui naudojamai odos gabalėliai 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 yra išgarinamas esant kambario temperatūrai, traukos spintoje. Kai odos gabalėliai yra visiškai sausi, jie supjaustomi 4,0 x4,0 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.

Analizės atlikimas. Akytumui nustatyti imama po vieną odos gabalėlį iš eksikatoriaus. Bandinys pirmiausiai pasveriamas analitinėmis svarstyklėmis, tada dedamas į stiklinę plačiu dugnu ir užpilamas žibalu taip, kad žibalo aukštis stiklinėje būtų 3 kartus aukštesnis nei ištiesto ant stiklinės dugno odos bandinio aukštis. Paruošta stiklinė įstatoma į eksikatorių, kuriame galima sudaryti vakuumą. Tuomet yra 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 g/cm³) paskaičiuojamas vidutinis odos akytumas išreikštas procentais :

$$A = \frac{V_s}{V_b} \times 100; \quad (8)$$

čia: V_s – sorbuotas žibalo tūris, ml; V_b – bandinio tūris

2.9. Fizikinių ir mechaninių savybių nustatymas

Odos fizikinių ir mechaninių savybių, tokių kaip santykinis pailgėjimas, apkrovimas ir atsparumas trūkio metu, nustatomas pagal galiojantį standartą (procentinė ištįsa, tempimo stipris ir atsparumas trūkio metu) nustatoma pagal galiojantį standartą [50].

2.10. Drėgnio nustatymas

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

$$W = \frac{A_1 - A_2}{A_1} * 100\%; \quad (9)$$

čia: A_1 – pavyzdžio masė prieš džiovinimą, g; A_2 – pavyzdžio masė po džiovinimo, g.

2.11. Dichlormetane tirpių medžiagų kiekio nustatymas

Riebinimo metu įsiskverbusių į odą medžiagų kiekis nustatomas pagal galiojantį standartą [51].

Paruošta oda ekstrahuojama dichlormetanu, kuris vėliau išgarinamas iš ekstrakto (džiovinamas 102 °C temperatūroje. Kiekvienam bandiniui paruošiami 2 lygiagretūs bandiniai. Oda susmulkinama, tiksliai pasveriami analitinėmis svarstyklėmis (po 4 – 5 g), suspaudžiama į filtravimo popieriaus tūta ir uždengiama. Ekstrakcija vykdoma naudojant Soksleto ekstraktorių. Paruošta filtravimo popieriaus gilzė su bandiniu dedama į ekstrakcijos aparatą ir pradedamas nepertraukiamas ekstrahavimas dichlormetanu. Baigus ekstrakciją tirpalas džiovinamas džiovinimo spintoje 102 ± 2 °C temperatūroje 4 valandas, tada 30 minučių vėsinama eksikatoriuje ir pasveriami. Džiovinimo, vėsinimo ir sverimo procesai kartojami kas valandą, kol paskutinio svėrimo masė sumažėja ne daugiau kaip 0,01 g.

Dichlormetane ekstrahuojamoji medžiaga, išreikšta sausosios medžiagos masės procentais, apskaičiuojama pagal formulę.

$$M = \frac{m_1}{m_0} \times 100 \times F; \quad (10)$$

$$F = \frac{100}{100 - w}; \quad (11)$$

čia: m_0 – bandinio masė, g; m_1 – ekstrakto masė, g; w – lakiosios medžiagos (pagal ISO 4684) masės dalis procentais.

2.12. Dažiklio ir pripildymo medžiagų kiekio odoje nustatymas

Medžiagų kiekiui tirpale nustatyti imama 20 ml tiriamojo tirpalo ir supilama į iškaitintą iki pastovios masės biuksą. Biuksas su tirpalu yra džiovinamas 102 ± 2 °C temperatūroje iki pastovios masės. Tirpale esantis medžiagos kiekis paskaičiuojamas pagal formulę:

$$m = \frac{m_t \times V_0}{20}, \quad (12)$$

čia: m_t – medžiagos kiekis 20 ml tirpale; V_0 – pradinis bandinio tūris

2.13. Chromintos odos infraraudonoji spektroskopinė analizė

Odos bandiniai po chrominimo tirti infraraudonosios spektroskopijos analizės metodu. Bandiniai analizei paruošiami taip pat kaip ir akytumo nustatymui.

IR spektru užrašyti, po fiksacijos acetonu ir 24 val. išlaikymo eksikatoriuje su kalio bichromatu, iš odos mėginio yra išpjaunamas maždaug 5x5 mm dydžio gabalėlis. Nuo jo yra atskiriamas 0,9–1 mm storio viršutinis odos sluoksnis, kurio apatinis paviršius yra naudojamas analizei. IR atspindžio spektrai gauti naudojant spektrometrą Perkin-Elmer FTIR Spectrum GX (JAV).

Analizei parinkti parametrai: skiriamoji geba 1 cm^{-1} , skenavimo greitis $0,2 \text{ cm/s}$, skenavimų skaičius – 16 kartų.

3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

3.1. Fermentinių preparatų Lithudac L ir Zime SB aktyvumo nustatymas

Odos apdorojimui parinkti du fermentiniai preparatai (FP) – Lithudac L ir Zime SB. Kadangi pikeliavimo procesas atliekamas rūgštinėje terpėje, įvertinama ar fermentas yra aktyvus esant žemoms pH vertėms ir kaip kinta jo aktyvumas keičiantis pH.

Kitas svarbus parametras, kurį taip pat reikia įvertinti – temperatūra. Pikeliavimas vyksta kambario temperatūroje, esant 20–22 °C. Pasirenkant fermentinius preparatus yra būtina nustatyti jų aktyvumą skirtingomis aplinkos sąlygomis, kad žinoti ar naudojamas FP pasižymės proteolitinio aktyvumu žemoje temperatūroje.

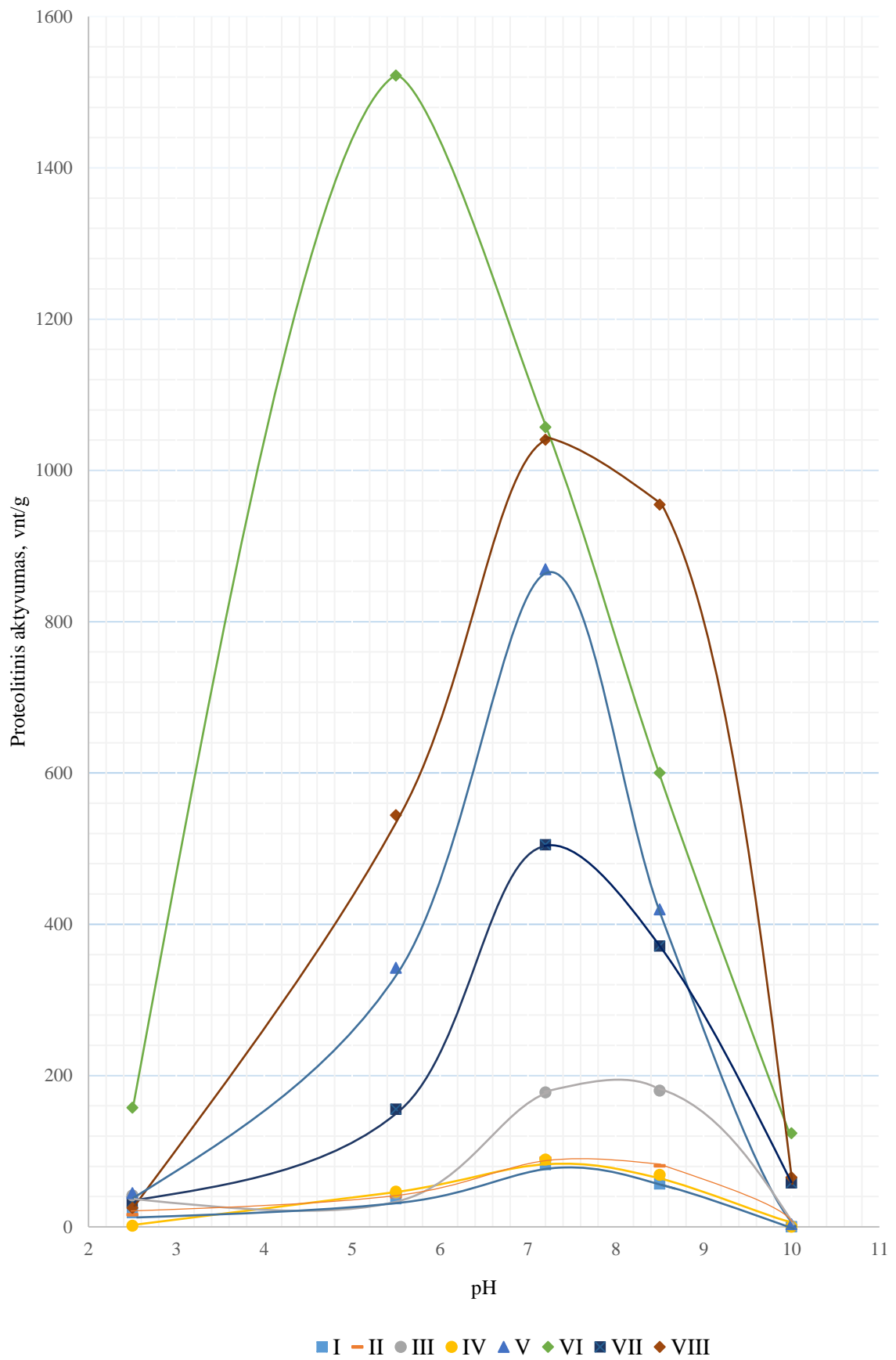
FP Lithudac L ir Zime SB proteolitinis aktyvumas buvo tirtas Ansono metodu. Aktyvumas tirtas esant įvairioms pH (nuo 2,5 iki 10) ir esant įvairioms temperatūroms – nuo 20 iki 50 °C. Pirmiausiai, nubraižyta gradavimo tiesė tirozino ekvivalentui, kuri pateikta prieduose, 1 pav. (tiesės lygtis $y = 0,1137x$, $R^2 = 0,9994$).

Nustačius abiejų FP aktyvumą, rezultatai pateikti 3.1 pav. Iš gautų rezultatų matyti, jog FP aktyvumas ženkliai priklauso nuo terpės pH. Išanalizavus gautus duomenis pastebėta, jog abiejų FP aktyvumas esant 2,5 pH yra apylygis. Didėjant pH vertėms, kartu didėja FP proteolitinis aktyvumas.

Tyrimo metu nustatyta, kad beveik nepriklausomai nuo temperatūros ir tirtu FP, abiejų preparatų didžiausias aktyvumas buvo, kai aplinkos pH – 7,2. Vienintelis atvejis, kai FP pasižymėjo didžiausiu aktyvumu esant mažesniai pH, tai FP Lithudac L, kuris 30 °C temperatūroje yra aktyviausias kai pH yra 5,5. Toliau didėjant pH, virš 7,2, abiejų FP proteolitinis aktyvumas staigiai mažėja. Taip pat nustatyta, jog FP Lithudac L proteolitinis aktyvumas, lyginant su FP Zime SB, yra maždaug 10 kartų didesnis esant analogiškomis veikimo sąlygomis.

Eksperimento metu įvertinta ir temperatūros įtaka. FP Lithudac L yra aktyviausias kai aplinkos temperatūra yra 30 °C. Esant tirpalo pH 5,5, proteolitinis aktyvumas buvo didžiausias. Toliau kylant tirpalo temperatūrai fermento aktyvumas mažėja. Kitas preparatas, Zime SB, aktyviausias aukštesnėje temperatūroje nei FP Lithudac L – prie 40 °C, o mažiausias aktyvumas – aplinkos temperatūrai esant 20 °C.

Iš rezultatų matyti, jog preparatui Lithudac L aktyviai veikti tinka ir žemesnė temperatūra nei FP Zime SB. Bet kuriuo atveju, abu FP pasižymi pakankamai dideliu aktyvumu rūgštinėje terpėje.



3.1 pav. Proteolitinio aktyvumo priklausomybė nuo pH. I, II, III, IV - FP Zime SB, V, VI, VII, VIII - FP Lithudac L. I ir V - 20 °C, II ir VI - 30 °C, III ir VII - 40 °C, IV ir VII - 50 °C

3.2. Kolageninių baltymų pokyčiai pikeliavimo metu

Hidroksiprolinas yra vienas pagrindinių kolageno sudedamųjų dalių. Ši amino rūgštis lemia kolageno baltymo stabilumą. Pagal hidroksiprolino buvimą ar nebuvimą apdorojimo tirpale galima spręsti apie atitinkamo metodo įtaką odos baltymams.

Vykdamas eksperimentus, pirmiausiai buvo nustatomas hidroksiprolino kiekis pikeliavimo tirpale. Žinant hidroksiprolino kiekį, apskaičiuojamas tirpale esantis kolageno kiekis. Pagal kolageno kiekį galima spręsti apie proceso efektyvumą bei jo įtaką išdirbtos odos savybėms.

Pikeliavimo metu naudoti skirtingi fermentiniai preparatai – Lithudac L ir Zime SB, ir skirtingos šių preparatų koncentracijos, norint įvertinti preparatų bei jų koncentracijų įtaką pikeliavimo procesui. Išdirbimui parinkti tokie FP kiekiai (% nuo plikės masės): 0,5 % Lithudac L, 1 % Lithudac L, 2% Lithudac L, 1 % Zime SB, 2 % Zime SB, 3 % Zime SB. Oda apdorota pagal įprastinę išdirbimo technologiją iki pikeliavimo proceso. Visi bandiniai paruošiamuosiuose procesuose apdoroti kartu. Po pirminio apdorojimo, prieš pikeliavimą, bandiniai išskirstomi į devynias eksperimentines serijas pikeliavimui atlikti.

Pikeliavimas atliktas taip:

I bandinių dalis (kontrolinė) – apdorota įprastiniu pikeliavimo metodu be FP.

Kitiems bandiniams pikeliavimo metu po paskutinės H₂SO₄ porcijos įdėjimo praėjus pusvalandžiui įdedama:

II bandinių daliai – 0,5 % Lithudac L,

III – 1 % Lithudac L;

IV – 2 % Lithudac L;

V – 1 % Zime SB;

VI – 2 % Zime SB;

VII – 3 % Zime SB.

I – VII bandiniams procesas vykdomas 5 valandas. Po proceso surinkti pikeliavimo tirpalai bei juose nustatytas kolageninių baltymų kiekis.

VIII ir IX bandinių serijoms buvo atliktas įprastas pikeliavimas (kaip ir kontrolinei), bet po to atliktas papildomas apdorojimas įdėjus FP:

VIII – 3 % Zime SB;

IX – 2 % Lithudac L.

Kiti papildomo fermentinio apdorojimo parametrai vienodi: H₂O – 80 %, NaCl – 30 g/l, temperatūra 20±1 °C, trukmė – 2 valandos. Maišoma nepertraukiamai viso proceso metu. Po proceso surinkti papildomo apdorojimo tirpalai bei juose nustatomas kolageninių baltymų kiekis.

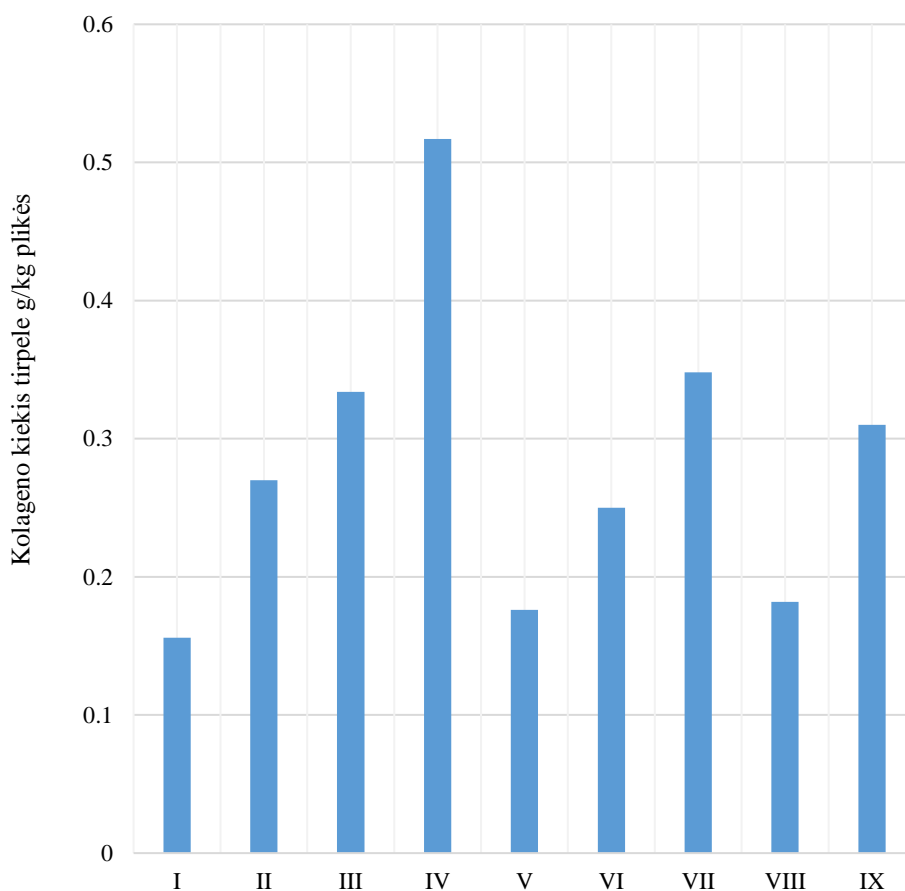
Eksperimento metu gauti rezultatai pateikti 3.2 paveiksle.

Pagal gautus rezultatus galima spręsti, kad dedant FP iš odos buvo pašalinta daugiau kolageninių baltymų, FP odą veikė stipriau negu pikeliavimo tirpalas be FP. Stipriausias poveikis odai buvo įdėjus 2 % FP Lithudac L. Pagal gautą kolageno kiekį tirpale matyti, jog baltymo hidrolizė vyko daugiau nei dvigubai intensyviau, lyginant su kontroliniu pikeliavimu.

Dedant FP Zime SB ir esant jo 3 % ir 2 % koncentracijoms, taip pat pastebėtas stipresnis poveikis odai nei kontrolio pikeliavimo atveju. Tačiau rezultatai rodo, jog Lithudac L veikia kolageną labiau, šio preparato kiekio reikia ženkliai mažiau, norint užtikrinti efektyvų poveikį pikeliavimo metu.

Sprendžiant iš eksperimento rezultatų, papildomas apdorojimas FP po įprastinio pikeliavimo taip pat parodė ženklų poveikį odai. Kaip ir pikeliavimo metu naudojant fermentus, taip ir papildomai apdorojant, Lithudac L stipriau veikė kolageną nei Zime SB, nors FP koncentracija pikeliavimo tirpale buvo ir mažesnė.

Iš kolageninio baltymų pokyčio tirpale tyrimo rezultatų galime spręsti, jog daugumoje atvejų parinkta per didelė FP koncentracija. Vieninteliu atveju, dedant 1 % FP Zime SB, pikeliavimo metu oda paveikta beveik taip pat kaip pikeliuojant įprastai. Papildomai apdorojus po pikeliavimo 3 % FP Zime SB kolageninių baltymų tirpale taip pat rastas panašus kiekis kaip kontroliniame bandinyje, tačiau įvertinant tai, jog oda prieš tai buvo paveikta ir pikeliavimo metu dalis kolageninių baltymų buvo pašalinta iš odos, susumuojant per abu šiuos procesus pašalintus kolageninius baltymus, jų suardoma ženkliai daugiau nei pikeliuojant įprastai. Taigi ši FP koncentracija taip pat yra per didelė.



3.2 pav. Kolageninių baltymų kiekio tirpale priklausomybė nuo apdorojimo būdo

3.3. Pikeliuotos plikės suvirimo temperatūros nustatymas

Hidroterminis kolageno stabilumas odoje yra charakterizuojamas suvirimo temperatūra. Suvirimo temperatūra – vandens arba glicerolio tirpalo temperatūra, kurią pasiekus, oda panardinta į tirpalą susitraukia. Suvirimo temperatūra rodo odos atsparumą karščiui, stiprumą, taip pat, pagal esančią suvirimo temperatūrą galime spręsti apie vykdyto proceso (pikeliavimo, chrominimo) efektyvumą [52].

Suvirimo temperatūra buvo nustatinėjama kaitinant vandenyje arba glicerolyje. Vanduo naudotas tiriant bandinius po pikeliavimo ir po jo atliekamo papildomo apdorojimo proceso, glicerolis – bandiniams po chrominimo.

Siekiant nustatyti FP poveikį odos suvirimo temperatūrai, oda buvo pikeliuota ir chrominta. Pirmiausiai, visiems odos bandiniams kartu atlikti paruošiamieji procesai iki pikeliavimo. Po paruošiamųjų procesų, bandiniai padalinti į eksperimentines serijas ir pikeliuoti naudojant įprastinę metodiką (vandens kiekis 80 % nuo plikės masės) bei kartu dedant FP Lithudac L ar Zime SB, bei keičiant šių FP koncentracijas. Po įprasti pikeliavimo, bandiniai buvo padalinti į dvi bandymines serijas ir papildomai apdoroti FP. Po šių išdėbimo procesų nustatyta bandinių suvirimo temperatūra.

3.1 lentelė. Plikės suvirimo temperatūra po pikeliavimo

Procesas, naudotas FP ir jo kiekis, % nuo plikės masės	Suvirimo temperatūra, °C
Pikeliavimas, Lithudac L, 0,5	48
Pikeliavimas, Lithudac L, 1	49
Pikeliavimas, Lithudac L, 2	55
Pikeliavimas, Zime SB, 1	46
Pikeliavimas, Zime SB, 2	48
Pikeliavimas, Zime SB, 3	59
Papildomas apdorojimas po pikeliavimo, Lithudac L, 2	53
Papildomas apdorojimas po pikeliavimo, Zime SB, 3	59
Įprastinis pikeliavimas (kontrolinis)	48

3.1 lentelėje pateikta bandinių suvirimo temperatūra po pikeliavimo. Pikeliavimo metu naudojant mažesnes FP koncentracijas gautos reikšmės yra artimos kaip plikės po įprasto pikeliavimo. Žemiausia plikės suvirimo temperatūra buvo pikeliavimo metu dedant 1 % Zime SB.

Kai FP koncentracijos pikeliuojant didesnės, plikės pasižymi ženkliai aukštesne suvirimo temperatūra nei kontroliniai bandiniai. Didžiausias hidroterminis stabilumas užfiksuotas pikeliuotoje odoje naudojant 3 % FP Zime SB. Nustatyta, jog taip apdorotos odos suvirimo temperatūra yra 11°C aukštesnė lyginant su kontroliniu bandiniu. Iš gautų rezultatų galime teigti, kad fermentiniu pikeliavimo metu oda buvo labiau išpurenta, struktūriniai elementai suartėję, todėl gauta suvirimo temperatūra buvo aukštesnė.

Vertinant papildomo apdorojimo proceso įtaką suvirimo temperatūrai, gautos labai artimos suvirimo temperatūrų vertės, jei pikeliuojant FP koncentracijos yra tokios pačios.

Norint įvertinti FP poveikį tolimesniems odos apdorojimo procesams, po pikeliavimo procesų, naudojant skirtingas FP koncentracijas, bandiniai buvo chrominti įprastine metodika (skyrius „Medžiagos ir tyrimų metodai“, 2.2 poskyris, 2.4 lentelė).

3.2 lentelė. Chrominto pusgaminių suvirimo temperatūros priklausomybė nuo pikeliavimo būdo

Procesas, naudotas FP ir jo kiekis, % nuo plikės masės	Suvirimo temperatūra, °C
Pikeliavimas, Lithudac L, 0,5	95,2
Pikeliavimas, Lithudac L, 2	94
Pikeliavimas, Zime SB, 1	102
Pikeliavimas, Zime SB, 3	104,5
Kontrolinis pikeliavimas	92,7

Pagal lentelėje pateiktus rezultatus galima teigti, kad chrominimas keičia odos struktūrą, todėl keičiasi ir suvirimo temperatūra. Po pikeliavimo gauta bandinių suvirimo temperatūra yra beveik perpus mažesnė už nustatytą po chrominimo. Chrominimo metu susidarę tarpmolekuliniai skersiniai ryšiai lemia ženklų suvirimo temperatūros padidėjimą.

Iš 3.2 rezultatų matoma, jog odų pikeliavimas naudojant FP turi pranašumų. Visi bandiniai, pikeliuoti kartu su FP, po chrominimo pasižymėjo didesniu hidroterminiu stabilumu. Ypatingai aukšta suvirimo temperatūra pasižymėjo bandiniai pikeliuoti dedant 3 % Zime SB FP. Jų suvirimo temperatūra buvo aukštesnė 11,8 °C lyginant su kontroliniais bandiniais. Remiantis po pikeliavimo ir chrominimo procesų nustatyta temperatūra galima tvirtinti, jog fermento Zime SB naudojimas pikeliavime turėjo ženklų pranašumą prieš kitus apdorojimo būdus.

Apibendrinant galima teigti, kad fermento priedas pikeliuojant turėjo ženklios įtakos chrominto pusgaminių suvirimo temperatūrai. Beje, kuo labiau plikė buvo paveikta pikeliuojant, t.y. iš jos pašalinta daugiau kolageninių baltymų, tuo aukštesnė tokios plikės suvirimo temperatūra buvo po chrominimo. Nors buvo spėjama, kad turėtų būti atvirkštinis efektas. Galima manyti, pikeliuojant kartu dedant FP, ne tik paveikiamas kolagenas, bet ir pati plikės derma geriau išskirstoma, todėl ji chrominant lengvai sudaro daugiau skersinių ryšių ir atitinkamai jos suvirimo temperatūra būna aukšta. Taigi šiuo požiūriu galima teigti, kad FP naudojimas pikeliuojant, nepaisant poveikio kolagenui, turėjo teigiamą poveikį.

3.4. Chromo junginių kiekis odoje ir apdorojimo tirpale

Fermentinio poveikio įtaka odai buvo vertinama ir pagal chrominimo proceso eigą, t.y. pagal chromo junginių kiekį pusgaminyje po proceso ir jų sunaudojimą chrominimo metu. Chromo junginių kiekis nustatytas chromintiems bandiniams po jų atsigulėjimo praėjus 24 val. Iki pikeliavimo bandiniai buvo apdoroti kartu. Gauti rezultatai pateikiami 3.3 lentelėje.

3.3 lentelė. Chromo junginių sunaudojimas chrominant ir Cr₂O₃ kiekis pusgaminyje po chrominimo

Procesas, naudotas FP ir jo kiekis, % nuo plikės masės	Cr ₂ O ₃ kiekis odoje, %	Chromo junginių sunaudojimas, %
Pikeliavimas, Lithudac L, 0,5	2,50	47,4
Pikeliavimas, Lithudac L, 2	2,60	57,9
Pikeliavimas, Zime SB, 1	2,52	50,4
Pikeliavimas, Zime SB, 3	2,65	58,0
Kontrolinis pikeliavimas	2,49	36,1

Iš pateiktų rezultatų matyti, kad pikeliavimo metu dedant didesnius kiekius FP randamas didesnis chromo junginių kiekis odoje, taip pat, pasiekiamas geresnis chromo junginių sunaudojimas. Šie rezultatai visiškai koreliuojasi su suvirimo temperatūros nustatymo rezultatais ir patvirtina teiginį, jog fermentinio pikeliavimo metu naudojant didesnę FP kiekį gaunama geriau išpurenta oda, o tokia oda prijungia daugiau chromo junginių ir jos suvirimo temperatūra būna aukštesnė.

3.5. Odos akytumo kitimas odos išdirbimo procesų metu

Odos akytumas dar vienas svarbus kokybinis rodiklis, leidžiantis įvertinti odos išdirbimo procesų efektyvumą.

Šiam rodikliui nustatyti odų apdorojimo eksperimentas buvo kartotas. Pirmiausia, bandiniai buvo apdoroti paruošiamuosiuose procesuose kartu, o po paruošiamųjų procesų suskirstyti į eksperimentines serijas. Dalis bandinių pikeliuoti pagal įprastinę metodiką, pateiktą 2.2 poskyryje, dalis apdorota dedant į pikeliavimo tirpalą FP ir dalis po įprastinio pikeliavimo papildomai apdoroti dedant FP. Atitinkamai, akytumas buvo nustatytas pikeliuotiems ar papildomai apdorotiems po pikeliavimo bandiniams.

Po pikeliavimo procesų bandiniai dehidratuoti acetonu ir atliekamas akytumo nustatymas. Rezultatai pateikiami 3.4 lentelėje.

3.4 lentelė. Akytumas po pikeliavimo ir papildomo pikeliavimo procesų

Procesas, naudotas FP kiekis, % nuo plikės masės	Akytumas, %
Pikeliavimas, Lithudac L, 0,5	60,9
Pikeliavimas, Lithudac L, 1	59,1
Pikeliavimas, Lithudac L, 2	55,6
Pikeliavimas, Zime SB, 1	59,8
Pikeliavimas, Zime SB, 2	55,7
Pikeliavimas, Zime SB, 3	53,5
Papildomas apdorojimas po pikeliavimo, Lithudac L, 2	62,7
Papildomas apdorojimas po pikeliavimo, Zime SB, 3	63,3
Įprastinis pikeliavimas (Kontrolinis)	67

Iš lentelėje pateiktų rezultatų matoma, kad fermentinis pikeliavimas turi ženklios įtakos apdorotos plikės akytumui. Visi bandiniai pikeliuojant apdoroti FP pasižymi mažesniu akytumu nei kontroliniai bandiniai. Tai gali būti paaiškinama tuo, jog fermentinio pikeliavimo metu iš odos yra pašalinamos

ne-kolageninės medžiagos, kolageno baltymo molekulės odoje suartėja viena kitos atžvilgiu taip palikdamos mažesnius tarpus.

Iš gautų rezultatų (3.4 lentelėje) galima spręsti, kad didinant FP koncentracijas odos akytumas mažėja. Kuomet naudojama 2 % FP, akytumas gaunamas beveik vienodas, nepriklausomai nuo FP rūšies. Didžiausias akytumo sumažėjimas nustatytas bandiniams, kurie pikeliuoti kartu su 3% FP Zime SB.

Beje, papildomai apdorojant odą FP po pikeliavimo akytumo pokytis yra mažesnis. Remiantis tokiais rezultatais, papildomas apdorojimas fermentais daro mažesnę įtaką akytumui nei odą pikeliuojant kartu su fermentais.

Akytumo rezultatai koreliuojasi su bandinių, gautų po šių apdorojimų, suvirimo temperatūros nustatymo rezultatais. Priklausomybė yra tiesioginė, mažiau poringi bandiniai pasižymėjo aukštesne suvirimo temperatūra ir atvirkščiai.

Norint įvertinti fermentinio pikeliavimo įtaką tolimesniems procesams, įprastai pikeliuoti bei kai kurie pikeliuoti dedant FP bandiniai buvo chrominti ir nustatytas tokių chromintų bandinių akytumas. Chrominimui atlikti naudota įprastinė metodika.

3.5 lentelė. Bandinių akytumas po chrominimo, priklausomai nuo apdorojimo prieš chrominimo būdą

Procesas, FP kiekis, % nuo plikės masės	Akytumas, %
Pikeliavimas, Lithudac L, 0,5	58,2
Pikeliavimas, Lithudac L, 2	55,9
Pikeliavimas, Zime SB, 1	62,7
Pikeliavimas, Zime SB, 3	55,6
Įprastinis pikeliavimas (kontrolinis)	64,7

Iš gautų rezultatų matyti, kad akytumo skirtumai išlieka ir po chrominimo. Bandiniai, kuriems pikeliuojant dėta fermento, pasižymėjo mažesniu akytumu, nei pikeliuojant įprastu būdu. Akytumo sumažėjimas priklauso ir nuo dėto FP koncentracijos, kuo FP daugiau tuo bandinio akytumas po chrominimo yra mažesnis ir atvirkščiai.

Apibendrinant šiuos pikeliavimo, kai proceso metu dedama FP, ir po jo atliekamo chrominimo tyrimo rezultatus galima teigti, jog FP pridėjimas turi ženkliai įtaką tiek pikeliuotos plikės, tiek chrominto pusgaminio savybėms, tokioms kaip suvirimo temperatūra, chromo junginių kiekis ir jų sunaudojimas bei akytumas. Taip pat, kai dedama fermentų, kolagenas veikiamas stipriau, ką liudija kolageninių baltymų kiekis apdorojimo tirpaluose.

3.6. Skysčio koeficiento įtaka fermentiniam pikeliavimui ir chrominimui

Pastaruoju metu, siekiant sumažinti aplinkos taršą, stengiamasi mažinti sunaudojamo odos išdirbimo procesams vandens kiekį – skysčio koeficientą. Deja, kai kuriems išdirbimo procesams tai gali turėti ženklios įtakos, nes sumažinus skysčio kiekį ir paliekant tokius pačius odos apdorojimui reikalingus medžiagų kiekius, jų koncentracijos proceso pradžioje būna ženkliai didesnės negu tada, kai skysčio yra daugiau, ir esant aukštesnėms koncentracijoms galimi įvairūs odos pažeidimai dėl pernelyg staigaus medžiagų poveikio.

Norint įvertinti skysčio koeficiento įtaką odos apdirbimo procesams, buvo atliktas pikeliavimas, kurio metu naudotas mažesnis vandens kiekis nuo plikės masės. Bandiniai paruošiamųjų procesų metu apdoroti kartu. Po pirminio apdoravimo, odos bandiniai padalinti į dvi eksperimentines serijas ir joms atliekamas pikeliavimas:

I – vandens kiekis pikeliavimo metu yra 40 % nuo plikės masės, kiti parametrai kaip įprastinio pikeliavimo metu – kontrolinis apdoravimas (žiūrėti 2.2 poskyrį, 2.4 lentelę),

II – vandens kiekis pikeliavimo metu taip pat sumažintas 40 % nuo plikės masės, pikeliavimo metu po paskutinės H₂SO₄ porcijos įdėjimo praėjus pusvalandžiui dedama 3 % Zime SB FP (nuo plikės masės), kiti parametrai kaip I pikeliavimo metu.

Tyrimams parinkta didžiausia Zime SB FP koncentracija, kadangi naudojant šį fermentą, kuomet skysčio koeficientas buvo didesnis, gauti suvirimo temperatūros, akytumo, chromo junginių kiekio odoje ir jų sunaudojimo rezultatai rodo, kad pikeliavimas pasirinkus tokį FP ir tokią jo koncentraciją turėjo didžiausią poveikį pikeliuota odai bei chromintam pusgaminiui.

Pikeliuoti odos bandiniai toliau chrominti pagal įprastinę chrominimo metodiką (žiūrėti 2.2 poskyrį, 2.4 lentelę). Chrominimo proceso efektyvumui įvertinti nustatyti tokie rodikliai kaip suvirimo temperatūra, akytumas, chromo junginių kiekis odoje, jų sunaudojimas proceso metu.

3.6 lentelė. Bandinių kokybiniai rodikliai po chrominimo

Pikeliuojant prieš chrominimą dėtas FP, % nuo plikės masės	Rodiklis	
	Suvirimo temperatūra, °C	Akytumas, %
Kontrolis pikeliavimas (I)	100	62,8
Pikeliavimas, Zime SB, 3 (II)	103,1	61,6

Suvirimo temperatūros nustatymo rezultatai rodo, jog tiek pikeliuojant kartu su FP ir tiek chrominant įprastiniu būdu po chrominimo gautas pusgaminis pasižymi dideliu termostabilumu. Lyginant gautus rezultatus, kuomet pikeliavimas vykdytas su didesniu vandens kiekiu, matomas akivaizdus bandinių be FP suvirimo temperatūrų skirtumas. Naudojant mažesnę skysčio koeficientą, kontrolinio bandinio suvirimo temperatūra yra 7,3 °C aukštesnė nei kontrolinio mėginio, kuris buvo apdorotas prie didesnio skysčio koeficiento.

Skirtingai nei kontroliniai bandiniai, naudojant FP pikeliavime, skysčio koeficiento požiūriu, po chrominimo bandinių suvirimo temperatūrų skirtumas nedidelis. Beje, pikeliavimo metu naudojant didesnę skysčio koeficientą ir 3 % Zime SB FP suvirimo temperatūra aukštesnė 1,5 °C negu naudojant tą patį fermento kiekį ir mažesnę skysčio koeficientą. Galima manyti, kad esant mažesniai skysčio koeficientui pikeliavimo metu fermentas kolageną veikia stipriau nei esant didesniam, atitinkamai, chrominant stipresnis poveikis pasireiškia žemesne suvirimo temperatūra.

Kitas nustatytas kokybinis rodiklis – odos akytumas po chrominimo. Iš eksperimento rezultatų matoma, kad abiejų bandinių akytumai yra artimi. Pikeliuojant tiek prie didesnio, tiek prie mažesnio skysčio koeficiento, jei dedama FP, po chrominimo akytumas būna mažesnis nei pikeliuojant įprastai.

3.7 lentelė. Chromo junginių sunaudojimo ir jų kiekio pusgaminyje priklausomybė nuo pikeliavimo būdo

Pikeliuojant prieš chrominimą dėtas FP, % nuo plikės masės	Rodiklis	
	Cr ₂ O ₃ kiekis odoje, %	Chromo junginių sunaudojimas, %
Kontrolis pikeliavimas (I)	2,98	60,1
Pikeliavimas, Zime SB, 3 (II)	3,11	62,1

Nustačius chromo junginių kiekį odoje ir jų sunaudojimą proceso metu, matomas pikeliavimo prie mažesnio skysčio koeficiento pranašumas. Bandinių, kurių pikeliavimo tirpale vandens kiekis buvo 40 % nuo bandinio masės, chromo junginių sunaudojimas chrominimo metu yra ženkliai didesnis, lyginant su bandiniais, kurie pikeliuoti esant 80 % vandens kiekiui nuo bandinio masės. Naudojant didesnę vandens kiekį, bet tą patį FP ir tokią pat FP koncentraciją, chromo junginių nustatytas 58 %, naudojant mažesnę vandens kiekį – 62,1 %.

Apibendrinant gautus rezultatus galima teigti, kad naudojant mažesnę skysčio koeficientą gaunamas chromintas pusgaminis pasižymi aukšta suvirimo temperatūra, didesniu aktyvumu, nei naudojant didesnę skysčio koeficientą, pasiekiamas didesnis chromo junginių kiekis odoje ir geresnis chromo junginių sunaudojimas.

3.7. Fermentinio chrominimo įtaka gaunamo pusgaminio savybėms

Atliktų tyrimų metu nustatyta, jog naudojant FP pikeliavimo procese ar jais papildomai apdorojant bandinius po pikeliavimo, galima pasiekti aukštesnę suvirimo temperatūrą bei geresnę chromo junginių įsisavinimą chrominimo metu.

Po šių tyrimų atliktas kitas eksperimentas, siekiant nustatyti ar naudojant FP chrominimo metu kartu su chromo junginiais galima gauti tokias pat geras išdirbto pusgaminio savybes kaip ir naudojant FP pikeliavime.

Pikeliavimas buvo atliekamas pagal įprastinę metodiką, pikeliavimo metu naudotas vandens kiekis nuo plikės masės – 40 %. Po pikeliavimo dalis bandinių buvo chrominta pagal metodiką nurodytą 2.2 poskyryje, o kitai daliai bandinių, kartu su chromo junginiais, įdėta 3 % Zime SB FP.

Chromintas pusgaminis po 24 val. atsigulėjimo buvo analizuotas kokybiniais rodikliais nustatyti (pateikti 3.8 lentelėje).

Pagal 3.8 lentelėje pateiktus rezultatus matoma, jog chrominimo metu naudojant FP gaunama aukštesnė chrominto pusgaminio suvirimo temperatūra nei kontrolinio bandinio. Taip pat, su FP priedu chromintą bandinį lyginant su analogišku chromintu (be FP priedo) bandiniu, kuris pikeliuotas dedant FP (3.6 lentelė), galima teigti, kad abiejų bandinių suvirimo temperatūra yra beveik vienoda.

Aktyvumo nustatymo rezultatai, pateikti 3.8 lentelėje, rodo, jog chrominimo metu naudojant FP aktyvumas yra šiek tiek mažesnis nei kontrolinio bandinio. Lyginant su bandiniu, kuris buvo apdorotas FP pikeliavimo metu, o ne chrominimo, aktyvumo skirtumas nėra didelis.

3.8 lentelė. Chromintų bandinių kokybiniai rodikliai

Chrominant dėtas FP, % plikės masės	Rodiklis	
	Suvirimo temperatūra, °C	Akytumas, %
Kontrolis chrominimas (be FP)	100	62,8
Zime SB, 3	103,3	62,3

Nustačius chromo junginių sunaudojimą (3.9 lentelė) matoma, jog chrominimo metu dedant FP chromo junginių sunaudojimas yra didesnis nei chrominant be FP. Taip pat, lyginant su visais prieš tai gautais rezultatais, chrominant kartu su FP, pasiektas apskritai didžiausias sunaudojimas.

Įdomu tai, jog nors chromo junginių sunaudojimas buvo pats didžiausias, chromo oksido kiekis odoje nebuvo didesnis nei kontroliniame bandinyje.

3.9 lentelė. Chromo junginių sunaudojimo ir jų kiekio pusgaminyje priklausomybė nuo chrominimo būdo

Chrominant dėtas FP, % plikės masės	Rodiklis	
	Cr ₂ O ₃ kiekis odoje, %	Chromo junginių sunaudojimas, %
Kontrolis chrominimas (be FP)	2,98	60,1
Zime SB, 3	2,91	66,8

Apibendrinant gautus rezultatus galima teigti, jog chrominimo metu naudojant FP chrominta oda pasižymi dideliu termostabilumu, akytumas yra artimas kontrolinei vertei, o chromo junginių sunaudojimas yra didesnis.

3.8. Odos fizikinių ir mechaninių savybių nustatymas

Išdirbtos odos stiprumas ir elastingumas yra vieni svarbiausių savybių aukštos kokybės produktų gamyboje. Išdirbta oda naudojama batų, rūbų ir kt. produktų gamyboje. Kadangi odos pagrindinė sudedamoji dalis yra kolagenas, jis ir nulemia odos stiprumą. Faktoriai darantys įtaką odoje esančiam kolageno stiprumui yra kolageno kiekis, molekulinė kolageno struktūra (D-išsidėstymas, kolageno tipas), skersiniai ryšiai esantys kolageno molekulėje, kolageno pluošto dydis ir orientacija [53].

Atsparumas visiško trūkio metu yra vienas svarbiausių odos mechaninių savybių. Šis dydis apibrėžia maksimalų įtempimą, kurį oda gali atlaikyti iki sutrūkstant. Pailgėjimas yra kitas fizikinis medžiagos rodiklis susijęs su jos kokybe. Pailgėjimas parodo odos gebėjimą prailgėti arba išsitempti, kuomet ji yra veikiami tempimo jėgos. Šis dydis dažniausiai yra išreiškiamas kaip pailgėjimo procentas nuo pradinio ilgio, kai apkrova yra lygi tempimo jėgai. Pailgėjimas parodo maksimalų išsitempimą iki trūkimo [54].

Eksperimento metu tirta trimis skirtingais būdais išdirbtų bandinių fizikinės ir mechaninės savybės. Visiems bandiniams vykdomas pikeliavimas naudojant 40 % vandens (nuo plikės masės):

1 bandinys – pikeliuotas įprastai – (kontrolinis);

2 bandinys – pikeliavimo metu dėta 3 % FP Zime SB;

3 bandinys – pikeliavimas vykdomas įprastai, bet 3 % FP Zime SB dėta chrominimo metu.

Iš kiekvieno bandinio buvo iškiršta po 4 mėginius fizikiniams ir mechaniniams rodikliams nustatyti (po 2 išilgai ar skersai stuburo linijos atžvilgiu). 3.10 lentelėje pateikti tyrimo rezultatai.

3.10 lentelė. Fizikinės chrominto pusgaminių savybės

Bandinio numeris ir kryptis	Santykinis pailgėjimas prie 10 N apkrovimo, %	Santykinis pailgėjimas trūkio metu, %	Apkrovimas visiško trūkio metu, 10 N/mm ²	Atsparumas visiško trūkio metu, 10 N/mm ²
1 skersiniai	35	81	82,5	15,5
1 išilginiai	51	82	92,5	17,4
1 vidurkis	43	81,5	87,5	16,45
2 skersiniai	89	112	71,9	13,5
2 išilginiai	43	58	72,3	12,7
2 vidurkis	66	85	72,1	13,1
3 skersiniai	61,8	81,2	78,9	14,3
3 išilginiai	82,3	107	75,3	15,0
3 vidurkis	72,05	94,1	77,1	14,7

Iš pateiktų rezultatų matyti, jog kontrolinis bandinys yra atsparesnis tempimui nei bandiniai, kurie buvo veikiami fermentais. Taip galėjo atsitikti todėl, jog kolageno baltymas pikeliavimo ir chrominimo metu buvo labiau veikiamas fermentų. Pagal nustatytą kolageno baltymo kiekį tirpale galima spręsti, jog daugiau kolageno buvo pašalinta fermentinio apdorojimo metu, o tai nulėmė mažesnę odos atsparumą tempimui. Antra vertus odai, kuriai apdoroti buvo naudojami FP, yra elastingesnė už kontrolę. Taip pat, remiantis gautais rezultatais galima teigti, jog chrominimo metu dedant FP, gaunama elastingesnė bei tvirtesnė oda, nei naudojant FP pikeliavimo procese.

3.9. Drėgno ir dichlormetane tirpių medžiagų kiekio nustatymas

Atliktas papildomas eksperimentas, kurio metu buvo išdirbtas riebinas ir dažytas pusgaminis. Jo metu pikeliavimas buvo vykdomas dviem skirtingais būdais: dedant 3 % FP Zime SB (nuo plikės masės) į pikeliavimo tirpalą ir pikeliuojant įprastine metodika. Pikeliavimo metu naudotas vandens kiekis – 80 % nuo plikės masės.

Po pikeliavimo bandiniai chrominti pagal įprastinę chrominto pusgaminių išdirbimo metodiką.

Po chrominimo atlikti metodikoje nurodyti apdailos procesai, kurie yra svarbūs galutinei odos kokybei. Gautam pusgaminiiui nustatytas drėgnis ir dichlormetane tirpių medžiagų kiekis (3.11 lentelė).

3.11 lentelė. Drėgnis ir dichlormetane tirpių medžiagų kiekis dažytame pusgaminyje

Pikeliuojant dėtas FP, % plikės masės	Rodiklis	
	Drėgnis, %	Dichlormetane tirpių medžiagų kiekis, %
Zime SB, 3 %	14,70	5,71
Kontrolinis pikeliavimas (be FP)	15,03	4,30

Tyrimo metu gauti rezultatai rodo, jog didesniu drėgniu pasižymėjo kontrolinė dažyta oda, tačiau joje buvo mažiau dichlormetane tirpių medžiagų. Tokie rezultatai rodo, jog po fermentinio pikeliavimo riebinimo procesas yra efektyvesnis nei įprastinai pikeliuojant. Odos bandinyje esantį didesnį riebalinančių medžiagų kiekį nulemia tai, jog fermentinio pikeliavimo metu yra pašalinamos

nekolageninės medžiagos, taip užtikrinamas lengvesnis riebinimo medžiagų įsiskverbimas ir pasiskirstymas dermoje.

3.10. Dažymo ir pripildymo procesų efektyvumas

Chromintas odos pusgaminis iki galutinio produkto turi praeiti dar ne vieną šlapios apdailos procesą. Vieni iš jų yra dažymas ir pripildymas. Šie procesai yra svarbūs dėl galutinio produkto išvaizdos, kokybės.

Chromintas odos pusgaminis yra melsvai žalsvos spalvos, dažymo metu odai suteikiama norima spalva. Šiame procese dažai pirmiausiai įsigeria į odą ir joje yra užfiksuojami fibrilėse elektrostatinėmis jėgomis [55]. Šio proceso metu yra ypatingai svarbu tolygus dažų pasiskirstymas odos paviršiuje, norint užtikrinti, kad esant išdirbto gaminio mikroplyšimams ar įtrūkimams spalva išliks nepakitusi.

Kitas tyrime vykdytas procesas – pripildymas. Pripildymas yra apibrėžiamas kaip medžiagų patekimas į odoje esančias tuščias poras, taip išlyginant odos storio nelygumus, paviršiaus pažeidimus [56].

Pusgaminio dažymo ir pripildymo procesai buvo atliekami chromintiems pusgaminiams, kuriems vykdytas skirtingas pikeliavimo procesas:

I – plikė fermentiškai pikeliuota naudojant 3 % FP Zime SB (nuo plikės masės);

II – pikeliuota įprastiniu būdu. Pikeliavimo procese naudotas didesnis skysčio koeficientas.

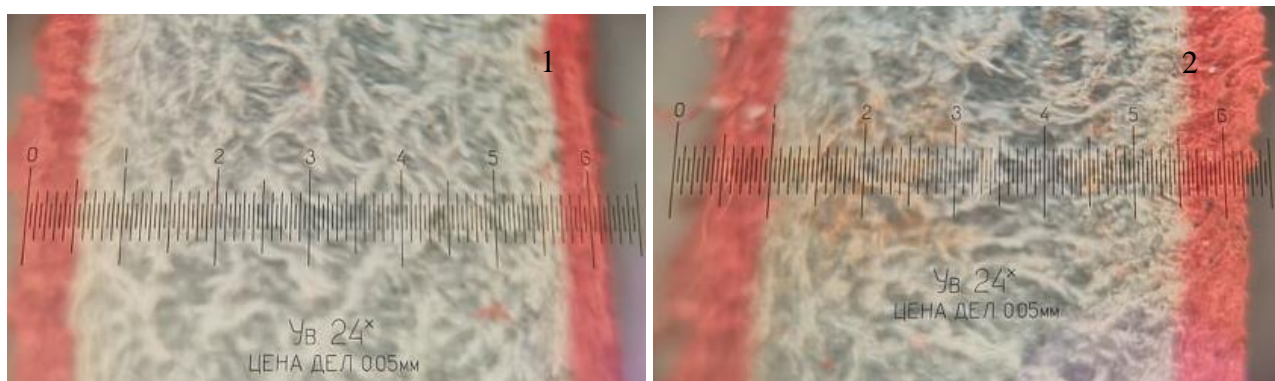
Po šių apdailos procesų nustatytas medžiagų sunaudojimas procesų metu. Pagal gautus medžiagų sunaudojimo kiekius, po fermentinio pikeliavimo geriau vyko apdailos procesai, didesni medžiagų kiekiai geriau įsiskverbė į tuščius odos tarpus.

3.12 lentelė. Medžiagų sunaudojimas

Pikeliavimui naudotas FP, jo kiekis % nuo bandinio masės	Dažų sunaudojimas, %	Pripildymo junginių sunaudojimas, %
Zime SB, 3	15,2	47,1
Kontrolis pikeliavimas (be FP)	12,4	46,5

Dažymo efektyvumas tirtas ne tik nustatant dažų sunaudojimą, bet vizualiai lyginant nudažytą plotą. Dažytas išdžiovintas pusgaminis perpjaunamas ir mikroskopuojamas jo skerspjūvis.

3.3 paveiksle pateiktos dažytos odos pusgaminio skerspjūvio fotografijos. Matoma, jog po fermentinio pikeliavimo dažai giliau įsiskverbė į odą – jų penetracija geresnė.



3.3 Pav. Dažyto odos pusgaminio skerspjūvio nuotraukos. 1 – pusgminis, kuris pikeliuotas įprastai; 2 – pikeliavimo metu dėta 3 % Zime SB FP

Remiantis gautais rezultatais galima teigti, jog po fermentinio pikeliavimo apdailos procesai vyko šiek tiek efektyviau nei po įprasto pikeliavimo. Didesni medžiagų sunaudojimai procesų metu tai patvirtina.

3.11. Chromintos odos infraraudonoji spektroskopinė analizė

IR spektroskopija yra puikus fizikinės analizės metodas. Naudojant šį analizės būdą galima nustatyti molekulėje esančias funkcines grupes bei ryšius. Šios spektroskopijos metu matuojama IR spinduliuotės absorbcijos bangos ilgis ir intensyvumas [57].

Eksperimentas vykdytas, norint įvertinti bandinių struktūros pokyčius skirtingo apdorojimo metu. IR spektroskopija analizuoti du chrominti pusgaminiai:

- I – prieš chrominimą pikeliuotas kartu su FP Zime SB;
- II – prieš chrominimą pikeliuotas įprastai – be FP.

Rezultatai pateikiami 3.13 lentelėje, 3.4 pav., 3.5 pav..

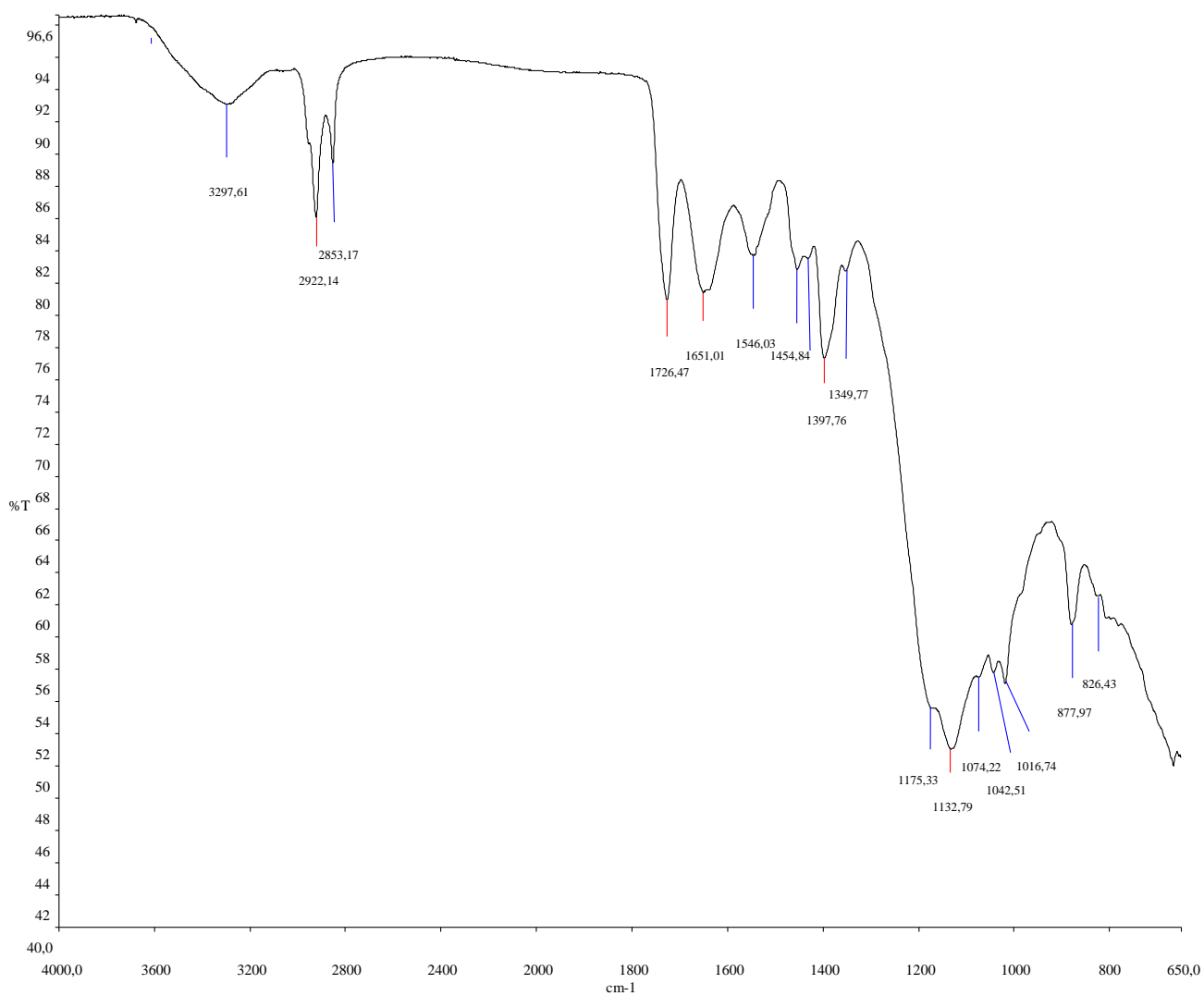
Spektrų lyginimui pasirinktos abiem spektram būdingos smailės. Pirmiausiai, iš spektro matomos plačios smailės esančios prie 3297 cm^{-1} , kurios yra būdingos vandeniliniam ryšiui (N-H, O-H). Kitos smailės, būdingos C-H funkciniai grupei, užfiksuotos $3000\text{--}2700\text{ cm}^{-1}$ intervale. Smailės intervaluose $1800\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ priskiriamos pirminių amidų grupėms, $1550\text{--}1510\text{ cm}^{-1}$ priskiriamos antrinių amidų grupėms. Taip pat, nustatyta karboksi grupė C-O-H $1440\text{--}1395\text{ cm}^{-1}$ intervaluose.

Iš IR analizės rezultatų matoma, kad FP apdorotų ir neapdorotų bandinių spektrai yra labai panašūs, abiejų bandinių spektrams būdingos smailės tuose pačiuose intervaluose. Pagal tai galima spręsti, kad fermentinių procesų metu esminių pokyčių odos struktūroje neįvyko.

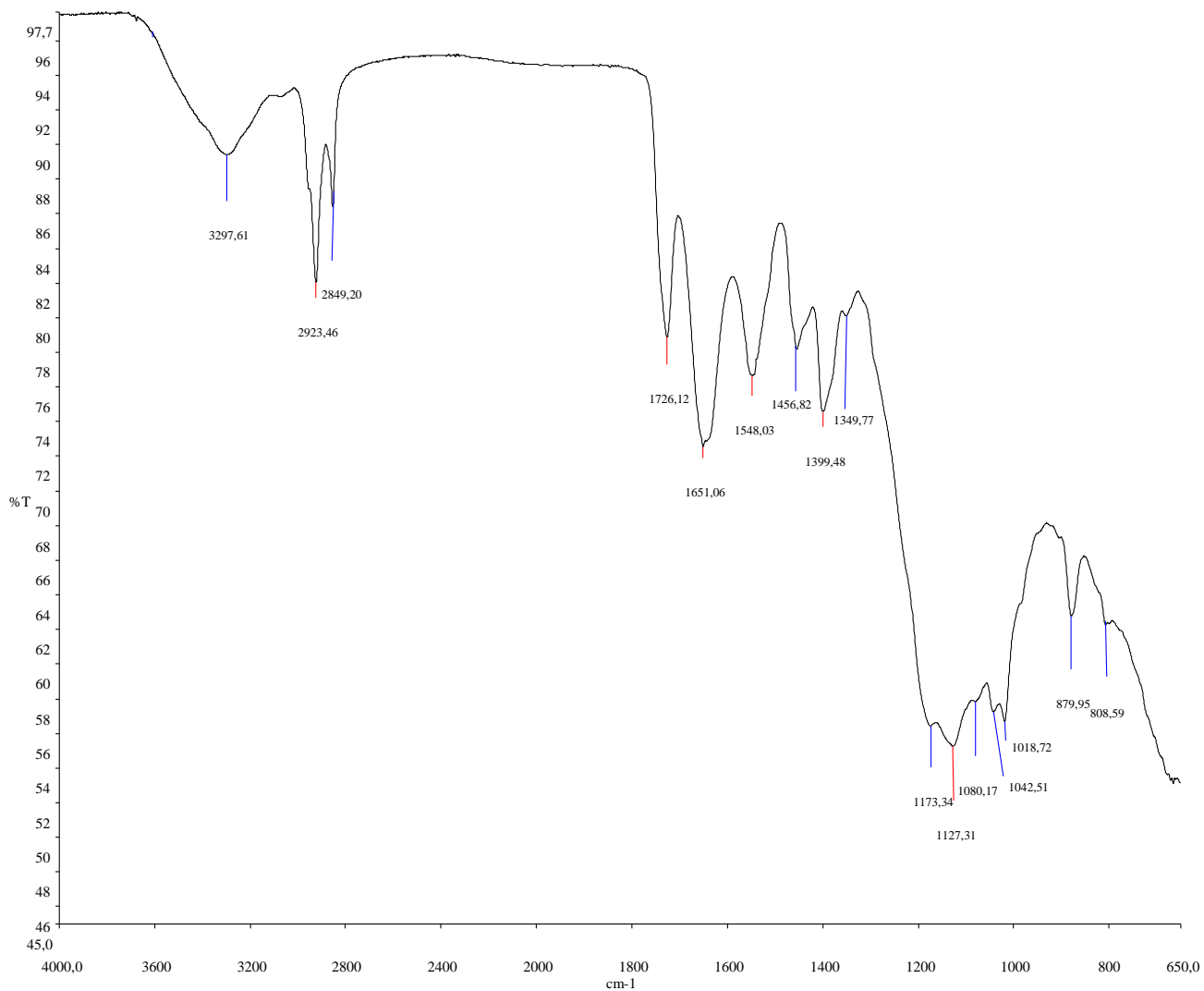
Antra vertus, iš gautų spektrų matoma, jog įprastai pikeliavus bandinį, po chrominimo, jo spektre, smailių intensyvumas yra didesnis, lyginant su fermentiškai pikeliuotu bandiniu. Smailių intensyvumo sumažėjimas patvirtina prielaidą, jog fermentinio pikeliavimo metu odos bandinys buvo labiau paveikiamas, jo struktūra labiau išpurenata, todėl smailių intensyvumas yra šiek tiek mažesnis.

3.13 lentelė. IR spektroskopijos analizė po chrominimo proceso

Funkcinė grupė arba ryšys, kuriam priskiriami svyravimai	Intervalas cm^{-1}		Zime SB 3%	Be FP
	Nuo	Iki	y cm^{-1}	y cm^{-1}
N-H; O-H	3650	3200	3297,61	3297,61
C-H, N-CH ₃	3000	2700	2923,46; 2849,20	2922,14; 2853,17
C=O; NH ₂	1800	1600	1726,12	1726,47
Pirminiai amidai turintys asocijuotą C=O	1670	1620	1651,06	1651,03
Antriniai amidai, turintys laisvąją NH	1550	1510	1548,03	1546,03
C-O-H	1440	1395	1399,48	1397,76



3.4 pav. Chrominto pusgaminių, kurį pikeliuojant dėta Zime SB FP, IR spektras

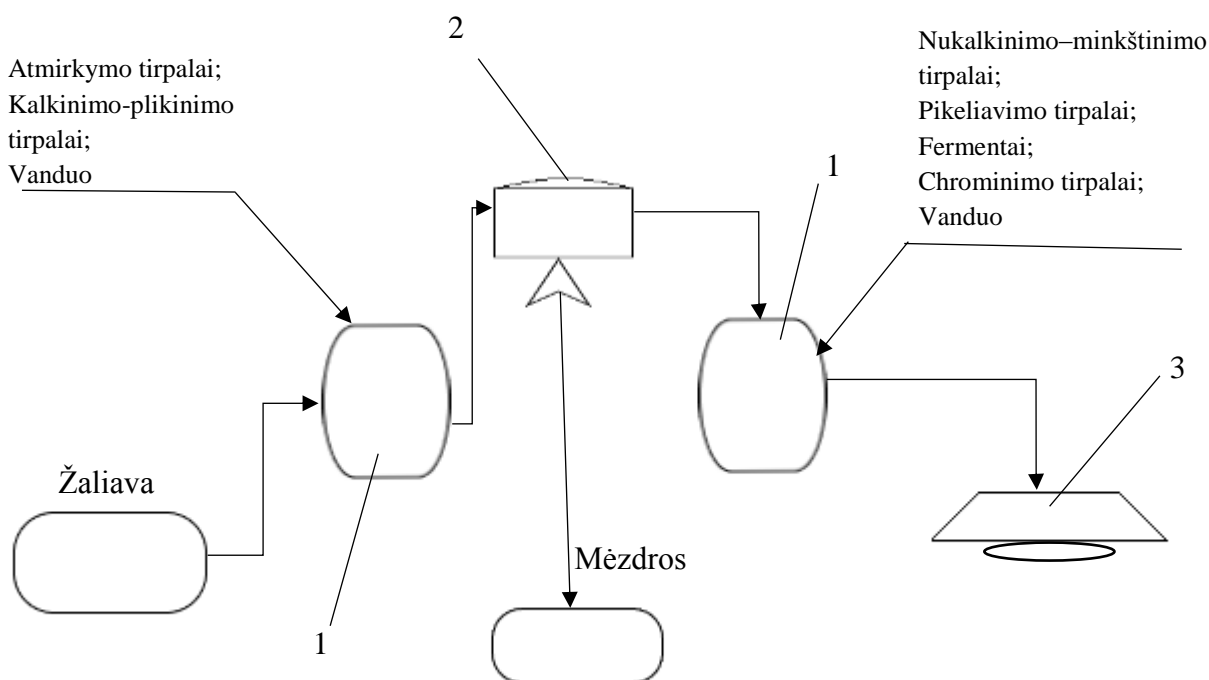


3.5 pav. Įprastai pikeliuoto (be FP) ir chrominto pusgaminio IR spektras

4. Rekomendacijų dalis

Rekomenduoja naudoti FP Lithudac L ir Zime SB nedideles koncentracijas (apie 1 % plikės masės), esant 20–22 °C temperatūrai pikeliuojant odas. Pikeliavimo procesas, iki paskutinės porcijos H₂SO₄ įdėjimo, atliekamas pagal įprastinę metodiką. Po paskutinio H₂SO₄ įdėjimo praėjus pusvalandžiui suberiamas reikalingas FP kiekis. Naudojant fermentus chrominant, FP dedamas kartu su chromo junginiais.

Principinė aparatūrinė schema pavaizduota 4.1 pav. Pirmiausiai, žaliava yra pakraunama į būgną, kuriame vykdomi plovimo ir atmirkymo procesai. Plovimams naudojamas vanduo, atmirkymo procesui – atmirkymo tirpalas. Procesų metu susidarę tirpalai, pasibaigus apdorojimui, nupilami. Tuomet vykdomi tolimesni kalkinimo–plikinimo procesai, kuriems naudojami kalkinimo–plikinimo tirpalai. Po proceso apdorota oda vadinama plike. Plikė yra mėzdroyama, atskirtos mėzdras pašalinamos. Po mėzdrojimo plikė sukraunama į būgną ir vykdomi plovimo, nukalkinimo–minkštinimo, pikeliavimo bei pikeliuotos plikės chrominimo procesai. Po kiekvieno proceso (iki pikeliavimo) tirpalai yra nupilami. Chrominimas vykdomas pikeliavimo tirpale. Po chrominimo gauti pusgaminiai ištiesiami ant atsigulėjimo vėžimėlio 24 val. atsigulėti.



4.1 pav. Aparatūrinė chrominto pusgaminių išdirbimo schema. 1 – būgnas, 2 – mėzdrojimo mašina, 3 – atsigulėjimo vėžimėlis

Išvados

1. Nustatyta, jog fermentinių preparatų aktyvumas priklauso nuo terpės pH. Abu preparatai pasižymi didžiausiu aktyvumu kai aplinkos pH 7,2. Fermentinis preparatas Lithudac L aktyviau veikia žemesnėje temperatūroje nei Zime SB. Abu fermentiniai preparatai pasižymi pakankamai dideliu aktyvumu rūgštinėje terpėje.
2. Kai pikeliavimo metu dedami fermentai ir po jo atliekamas chrominimas, matoma ženkli įtaka tiek pikeliuotos plikės, tiek chrominto pusgaminių savybėms, tokioms kaip suvirimo temperatūra, chromo junginių kiekis ir jų sunaudojimas bei aktyvumas. Taip pat, kai dedama fermentų, kolagenas veikiamas stipriau, ką liudija didesnis kolageninių baltymų kiekis apdorojimo tirpaluose – naudojant 3 % Zime SB kolageno kiekis tirpale yra 0,348 g/kg plikės, naudojant 2 % Lithudac L – 0,517 g/kg plikės, kai fermentas nededamas – 0,156 g/kg plikės.
3. Naudojant mažesnę skysčio koeficientą (40 % plikės masės) gaunamas chromintas pusgaminis pasižymi aukšta suvirimo temperatūra, didesniu aktyvumu, nei naudojant didesnę skysčio koeficientą (80 % plikės masės), chromo junginių odoje yra daugiau ir pasiekiamas geresnis jų sunaudojimas.
4. Chrominimo metu naudojant fermentus, chrominta oda pasižymi dideliu termostabilumu – suvirimo temperatūra – 103,3 °C, o chromo junginių sunaudojimas yra didesnis. Be to, nustatytos chrominto pusgaminių mechaninės ir fizikinės savybės leidžia teigti, jog chrominimo metu dedant fermentų, gaunama elastingesnė bei tvirtesnė oda, nei naudojant fermentus pikeliavime.
5. Įriebintame ir dažytame pusgaminyje, kuris pikeliuotas dedant fermentų, yra daugiau dichlormetane tirpių medžiagų – 5,7 %, nei gautame pikeliuojant įprastai – 4,3 %, kas liudija apie efektyvesnę įriebinimą. Geresnis naudotų dažyti ir papildymo medžiagų sunaudojimas rodo, kad šie procesai taip pat vyko efektyviau.
6. Infraraudonosios spektroskopijos analizės rezultatai leidžia teigti, kad fermentiniais preparatais apdorotų ir neapdorotų bandinių spektrai yra labai panašūs, abiejų bandinių spektrams būdingos analogiškos ir panašaus intensyvumo smailės tuose pačiuose bangos skaičiaus intervaluose. Taigi fermentų pridėjimas pikeliuojant pastebimo efekto odos struktūros pokyčiams neturėjo.

Literatūros sąrašas

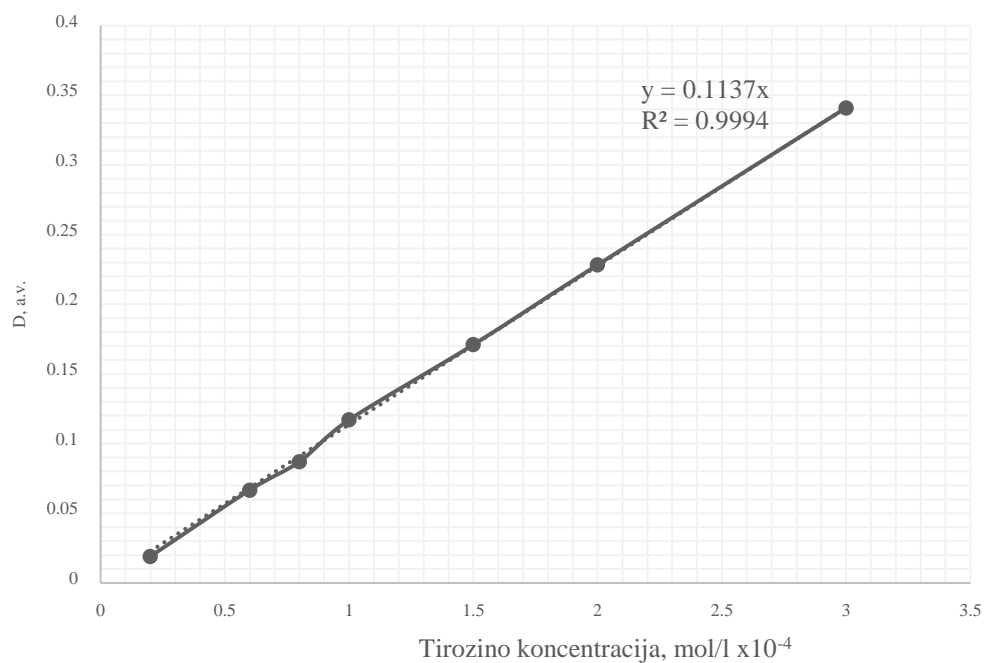
1. SARAN, Saurabh, et al. Enzyme mediated beam house operations of leather industry: a needed step towards greener technology. *Journal of Cleaner Production*. 2013, 54, 315-322. ISSN 0959-652.
2. DE SOUZA, Franck R.; GUTTERRES, Mariliz. Application of enzymes in leather processing: a comparison between chemical and coenzymatic processes. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 2012, 29(3), 473-482. ISSN 0104-6632.
3. KOLARSICK, Paul AJ; KOLARSICK, Maria Ann; GOODWIN, Carolyn. Anatomy and physiology of the skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association* [interaktyvus]. 2011, 3(4), 203-213 [žiūrėta 2018-03-24]. Prieiga per doi:[10.1097/JDN.0b013e3182274a98](https://doi.org/10.1097/JDN.0b013e3182274a98).
4. BARONI, Adone, et al. Structure and function of the epidermis related to barrier properties. *Clinics in dermatology* [interaktyvus]. 2012, 30(3), 257-262 [žiūrėta 2018-03-24]. Prieiga per doi:[10.1016/j.clindermatol.2011.08.007](https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2011.08.007).
5. LAI-CHEONG, Joey E.; MCGRATH, John A. Structure and function of skin, hair and nails. *Medicine* [interaktyvus]. 2009, 37(5), 223-226 [žiūrėta 2018-03-24]. Prieiga per doi:[10.1016/j.mpmed.2009.03.002](https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2009.03.002).
6. WELLS, Hannah C., et al. Collagen fibril diameter and leather strength. *Journal of agricultural and food chemistry* [interaktyvus]. 2013, 61(47), 11524-11531 [žiūrėta 2018-03-24]. Prieiga per doi:[10.1021/jf4041854](https://doi.org/10.1021/jf4041854).
7. FERREIRA, Ana Marina, et al. Collagen for bone tissue regeneration. *Acta biomaterialia*. 2012, 8(9), 3191-3200. ISSN 1742-7061.
8. BELBACHIR, Karima, et al. Collagen types analysis and differentiation by FTIR spectroscopy. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2009, 395.3, 829-837. ISSN 1618-2642.
9. TSAI, Shiao-Wen, et al. Type I collagen structure modulates the behavior of osteoblast-like cells. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2010, 41(3), 247-251. ISSN 1876-1070.
10. POTEKHIN, S. A., et al. High pressure stabilization of collagen structure. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*. 2009, 1794(8), 1151-1158. ISSN 1570-9639.
11. BASIL-JONES, Melissa M., et al. Leather structure determination by small-angle X-ray scattering (SAXS): cross sections of ovine and bovine leather. *Journal of agricultural and food chemistry* [interaktyvus]. 2010, 58(9), 5286-5291 [žiūrėta 2018-03-28]. Prieiga per doi:[10.1021/jf100436c](https://doi.org/10.1021/jf100436c).
12. DETTMER, Aline; AYUB, M. A.; GUTTERRES, Mariliz. Hide unhairing and characterization of commercial enzymes used in leather manufacture. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 2011, 28(3), 373-380. ISSN 0104-6632.
13. MA, Jianzhong, et al. Greener approach to efficient leather soaking process: role of enzymes and their synergistic effect. *Journal of cleaner production*. 2014, 78, 226-232. ISSN 0959-6526.
14. THANIKAIVELAN, Palanisamy, et al. Progress and recent trends in biotechnological methods for leather processing. *TRENDS in Biotechnology*. 2004, 22(4), 181-188 [žiūrėta 2018-03-28]. Prieiga per doi:[10.1016/j.tibtech.2004.02.008](https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2004.02.008).
15. SANGEETHA, JEYABALAN, et al. *Genomics and Proteomics: Principles, Technologies, and Applications*. Canada, Apple academic press, 2015. ISBN 978-1-4987-2311-4
16. ZAMBARE, V. P.; NILEGAONKAR, S. S.; KANEKAR, P. P. Protease production and enzymatic soaking of salt-preserved buffalo hides for leather processing. *IIOAB Letters*. 2013, 3.1-7. ISSN 2161-3702

17. BEGHETTO, Valentina, et al. The leather industry: a chemistry insight Part I: an overview of the industrial process. *Sciences At Ca'Foscari* [interaktyvus]. 2013 [žiūrėta 2018-03-28]. Prieiga per doi:10.7361/SciCF-448
18. SENTHILVELAN, T.; KANAGARAJ, J.; MANDAL, A. B. Application of enzymes for dehairing of skins: cleaner leather processing. *Clean Technologies and Environmental Policy*. 2012, 14(5), 889-897. ISSN 1618-954X.
19. JIAN, Song; WENYI, Tao; WUYONG, Chen. Studies on the application of ultrasound in leather enzymatic unhairing. *Ultrasonics sonochemistry*. 2010, 17(2), 376-382. ISSN 1350-4177.
20. VERMA, Amit, et al. Potential of alkaline protease isolated from *Thermoactinomyces* sp. RM4 as an alternative to conventional chemicals in leather industry dehairing process. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*. 2011, 4(2), 173-178. ISSN 0974-1712.
21. ARUNACHALAM, C.; SARITHA, K. Protease enzyme: An eco-friendly alternative for leather industry. *Indian Journal of Science and Technology*. 2009, 2(12), 29-32. ISSN 0974-6846.
22. GEORGE, Nancy, et al. Approach to ecofriendly leather: characterization and application of an alkaline protease for chemical free dehairing of skins and hides at pilot scale. *Journal of cleaner production*. 2014, 79, 249-257. ISSN 0959-6526.
23. JIAN, Song; WENYI, Tao; WUYONG, Chen. Kinetics of enzymatic unhairing by protease in leather industry. *Journal of cleaner production*. 2011, 19(4), 325-331. ISSN 0959-6526.
24. ZAMBARE, Vasudeo; NILEGAONKAR, Smita; KANEKAR, Pradnya. Application of protease from *Bacillus cereus* MCM B-326 as a bating agent in leather processing. *IIOAB J.* 2010, 1(4), 18-21. ISSN 0976-3104.
25. JAOUADI, Nadia Zaraï, et al. A novel keratinase from *Bacillus tequilensis* strain Q7 with promising potential for the leather bating process. *International journal of biological macromolecules*. 2015, 79, 952-964. ISSN 0141-8130.
26. MHYA, D. H.; MANKILIK, M. Bacterial Enzymes: A Good Alternative to Conventional Chemicals in Leather Processing. *International Journal of Biosciences and Nanosciences*. 2015, vol.2(1), 20-23. ISSN 2349-5251.
27. Rosa, R., Pini, M., Neri, P., Corsi, M., Bianchini, R., Bonanni, M., & Ferrari, A. M. (2017). Environmental sustainability assessment of a new degreasing formulation for the tanning cycle within leather manufacturing. *Green Chemistry* [interaktyvus]. 2017, 19(19), 4571-4582. [žiūrėta 2018-04-02]. Prieiga per doi:[10.1039/c7gc01900a](https://doi.org/10.1039/c7gc01900a).
28. KANTH, Swarna V., et al. Cleaner tanning practices for tannery pollution abatement: role of enzymes in eco-friendly vegetable tanning. *Journal of Cleaner Production*. 2009, 17(5), 507-515. ISSN 0959-6526.
29. KANTH, Swarna Vinodh, et al. Kinetics of leather dyeing pretreated with enzymes: Role of acid protease. *Bioresource technology*. 2009, 100(8), 2430-2435. ISSN 0960-8524.
30. KANTH, Swarna V., et al. Studies on the influence of bacterial collagenase in leather dyeing. *Dyes and pigments*. 2008, 76(2), 338-347. ISSN 0143-7208.
31. PAUL, Tanmay, et al. Bacterial keratinolytic protease, imminent starter for NextGen leather and detergent industries. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. 2016, 3, 8-22. ISSN 2352-5541.
32. BINOD, Parameswaran, et al. Industrial Enzymes-Present status and future perspectives for India. *Journal of Scientific and Industrial Research*. 2013, 72, 271-286. ISSN 0022-4456.
33. JENITTA, X. Josephine; GNANASALOMI, V. Daphne Vivienne; GNANADOSS, J. Joel. Treatment of leather effluents and waste using fungi. *Int J Comput Algorithm*. 2013, 2: 294-298. ISSN 2278-2397.

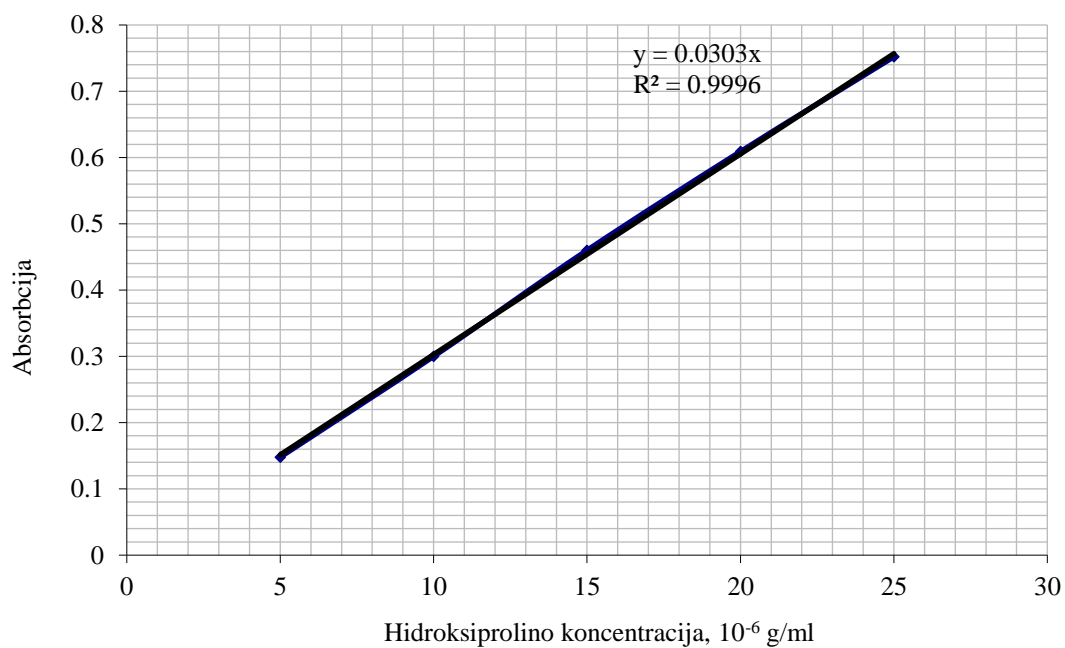
34. ZHANG, Chunxiao, et al. A salt-free and chromium discharge minimizing tanning technology: the novel cleaner integrated chrome tanning process. *Journal of cleaner production*. 2016, 112, 1055-1063. ISSN 0959-6526.
35. NASHY, Elshahat HA, et al. Molecular spectroscopic study for suggested mechanism of chrome tanned leather. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2012, 88, 171-176. ISSN 1386-1425.
36. BLACK, Michael, et al. Best available techniques (BAT) reference document for the tanning of hides and skins. *European Commission Database* [interaktyvus]. 2013 [žiūrėta 2018-04-15]. Prieiga per doi:[10.2788/13548](https://doi.org/10.2788/13548).
37. TARIQ, Saadia R.; SHAH, Munir H.; SHAHEEN, Nazia. Comparative statistical analysis of chrome and vegetable tanning effluents and their effects on related soil. *Journal of hazardous materials*. 2009, 169(1-3), 285-290. ISSN 0304-3894.
38. LI, Kai, et al. A salt-free pickling regime for hides and skins using oxazolidine. *Journal of cleaner production*. 2009, 17(17), 1603-1606. ISSN 0959-6526.
39. LIU, Min, et al. Enhancement of chromium uptake in tanning process of goat garment leather using nanocomposite. *Journal of Cleaner Production*. 2016, 133, 487-494. ISSN 0959-6526.
40. RAMAMURTHY, G., et al. Rationalized method to enhance the chromium uptake in tanning process: role of Gallic acid. *Clean Technologies and Environmental Policy* [interaktyvus]. 2014, 16(3), 647-654 [žiūrėta 2018-10-15]. Prieiga per doi:[10.1007/s10098-013-0651-1](https://doi.org/10.1007/s10098-013-0651-1).
41. ÖZGÜNAY, Hasan, et al. Industrial Trials For a More Ecological Chromium Tanning. In: *International Conference on Advanced Materials and Systems (ICAMS)*. The National Research & Development Institute for Textiles and Leather-INCDTP. 2016, 489-493 žiūrėta [2018-10-15]. Prieiga per ResearchGate.
42. SUNDAR, Victor John; MURALIDHARAN, Chellappa; MANDAL, Asit Baran. A novel chrome tanning process for minimization of total dissolved solids and chromium in effluents. *Journal of cleaner production*. 2013, 59, 239-244. ISSN 0959-6526.
43. FATHIMA, N.; RAO, J.; NAIR, B. Studies on phosphonium based combination tanning: Less chrome approach. *Journal of the American Leather Chemists Association* [interaktyvus]. 2011, 106(9), 249 [žiūrėta 2018-10-30]. Prieiga per ResearchGate.
44. NASHY, EL- Shahat HA; ESSA, Mohamed M.; HUSSAIN, Ahmed I. Synthesis and application of methyl methacrylate/butyl acrylate copolymer nanoemulsions as efficient retanning and lubricating agents for chrome- tanned leather. *Journal of Applied Polymer Science* [interaktyvus]. 2012, 124(4), 3293-3301 [žiūrėta 2018-10-30]. Prieiga per doi:[10.1002/app.35208](https://doi.org/10.1002/app.35208).
45. GOST 20264.2-88. Enzyme preparations. Methods for determination of proteolytic activity [interaktyvus]. [žiūrėta 2018-11-10]. Prieiga: <http://docs.cntd.ru/document/1200023426>.
46. ZAIDES, A., MIKHAILOV, A. and PUSHENKO O., Modiphitsirovanyi method opredeleniya oksiprolina. *Biokhimiya*. No. 1, 5 (1964). (In Russian)
47. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION [ISO 3380:2015]. *Leather. Physical and mechanical tests. Determination of shrinkage temperature up to 100 °C*
48. GOLOVTEJEVA, A., KUCIDI, D. AND SANKIN, L., *Laboratornyi praktikum po technology kozhi i mecha. Legkayia I Pischevayia Promyshlenost*, Moscow, USSR (1982). (In Russian).
49. LIETUVOS STANDARTIZACIJOS DEPARTAMENTAS. [LST EN ISO 5398-1:2018]. *Oda. Cheminis chromo oksido kiekio nustatymas. 1 dalis. Kiekybinis įvertinimas titravimo būdu (ISO 5398-1:2018) = Leather - Chemical determination of chromic oxide content - Part 1:*

- Quantification by titration: Europos standartas EN ISO 5398-1:2* turi Lietuvos standarto statusą. Vilnius: Lietuvos standartizacijos departamentas, 2018.
50. LIETUVOS STANDARTIZACIJOS DEPARTAMENTAS [LST EN ISO 3376:2012].
Oda. Fizikiniai ir mechaniniai bandymai. Tempimo stiprio ir procentinės ištiesos nustatymas (ISO 3376:2011) = Leather - Physical and mechanical tests - Determination of tensile strength and percentage extension: Europos standartas EN ISO 3376:2011 2011 turi Lietuvos standarto statusą. Vilnius: Lietuvos standartizacijos departamentas, 2012.
51. LIETUVOS STANDARTIZACIJOS DEPARTAMENTAS [LST EN ISO 4048:2018].
Oda. Cheminiai bandymai. Dichlormetane tirpios medžiagos ir laisvųjų riebalų rūgščių kiekio nustatymas (ISO 4048:2018) = Leather - Chemical tests - Determination of matter soluble in dichloromethane and free fatty acid content: Europos standartas EN ISO 4048:2018 turi Lietuvos standarto statusą. Vilnius: Lietuvos standartizacijos departamentas, 2018.
52. CHAHINE, Claire. Changes in hydrothermal stability of leather and parchment with deterioration: a DSC study. *Thermochimica Acta* [interaktyvus]. 2000, 365(1-2), 101-110 [žiūrėta 2019-04-03]. Prieiga per doi:[10.1016/S0040-6031\(00\)00617-1](https://doi.org/10.1016/S0040-6031(00)00617-1)
53. SIZELAND, Katie H., et al. Collagen orientation and leather strength for selected mammals. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2013, 61(4), 887-892. ISSN 0021-8561.
54. LIU, Cheng-Kung, et al. Microscopic observations of leather looseness and its effects on mechanical properties. *JALCA*. 2009, 140, 230-236. ISSN 0002-9726.
55. SIVAKUMAR, Venkatasubramanian; RAO, Paruchuri Gangadhar. Studies on the use of power ultrasound in leather dyeing. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2003, 10(2), 85-94. ISSN 1350-4177.
56. TESFAW, Asmamaw; ASSEFA, Fassil. Applications of transglutaminase in textile, wool, and leather processing. *International Journal of Textile Science* [interaktyvus]. 2014, 3(4), 64-69 [žiūrėta 2019-04-02]. Prieiga per doi:[10.5923/j.textile.20140304.02](https://doi.org/10.5923/j.textile.20140304.02).
57. YANG, Huayan, et al. Obtaining information about protein secondary structures in aqueous solution using Fourier transform IR spectroscopy. *Nature protocols* [interaktyvus]. 2015, 10(3), 382. [žiūrėta 2019-04-02]. Prieiga per ResearchGate.

Priedai



1 pav. Gradavimo tiesė tirozino ekvivalentui



2 pav. Gradavimo kreivė hidroksiprolino ekvivalentui