

ДОСЛІДЖЕННЯ ДІЇ ФЕРМЕНТІВ ПІД ЧАС ПРОЦЕСУ М'ЯКШЕННЯ НА ВЛАСТИВОСТІ ШКІРИ ТВАРИН

У статті розглянуто вплив ферментів протеолітичної дії на етапі м'якшення на шкіру. Визначено ефективність ферментів за допомогою методів порівняння деформації, ІЧ-спектроскопії, мікроскопії. Приведені результати дослідів двох ферментів – *Bacilus sp.* та *Chemizum BH*.

Ключові слова: фермент, Протеаза, *Chemizum BH*, ІЧ-спектроскопія, деформація, м'якшення.

D.V. STATSENKO, B.M. ZLOTENKO, O.A. MATVIENKO

Kyiv national university of technologies and design

STUDY THE ACTION OF ENZYMES DURING BATING ON LEATHER PROPERTIES

Abstract – The purpose of this study is to research new enzymes that used during bating and research leather deformation, infrared spectroscopy, microscopy.

The first stage of our work was to determine and compare deformation of semi-finished leather that has been treated with enzymes. Enzymes that used in this research were Chemizum BH made by Poland company "Chemipol" and Bacilus sp. made by Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the National Academy of Sciences of Ukraine. Deformation is determined by the following method: leather samples stretched out then kept in this state for some time, after that load was removed and the samples were kept in a free state to take readings. The next step was to conduct an infrared spectroscopy and microscopy of leather sample.

The results obtained in this study give us opportunity to say that the best result of bating observed by using solution based on the enzyme Bacilus sp. and electroactivated water (catholyte).

Keywords: bating, deformation, leather, enzymes.

Вступ

Шкіряне виробництво в Україні є одним з важливих напрямків розвитку економіки. Досягнення конкурентоспроможної продукції, що стає можливим завдяки використанню нових хімічних елементів на різних технологічних етапах виготовлення шкіри, є метою підприємств, які виготовляють натуральну шкіру. Використання ферментів, на різних етапах виробництва готової шкіри вже багато років розглядається у різних наукових установах всього світу [1, 2]. М'якшення – обробка частково чи повністю незоленої голини, протягом 2–4 годин, у водному середовищі за підвищеної температури ферментним препаратом, внаслідок якої видаляються із дерми залишки гнейсу, повністю зникає бубнява, збільшується повітропроникність голини. Під час м'якшення відбувається більш глибокий поділ структурних елементів лицьового шару дерми. При цьому шкіра стає еластичною і більш тягучою [3]. Загалом, у процесі м'якшення використовуються ферменти, які руйнують колагенову структуру дерми [4]. Завдяки цьому її деформація збільшується, а готова натуральна шкіра стає більш м'якою, гладкою, шовковистою. Основним з напрямків дослідження ферментів, що використовуються у процесі м'якшення, є ферменти протеолітичної дії [5].

Постановка завдання

Метою даної роботи є дослідження нових ферментів, які використовуються під час процесу м'якшення дерми. Проведення дослідів пов'язаних з визначенням деформації, іч-спектроскопії, мікроскопії шкіри тварин.

Результати досліджень

Першим етапом даної роботи було, порівняння відносної деформації зразків напівфабрикату шкіри оброблених двома ферментами:

1. Фермент польського виробництва: "Chemipol". Ферментний продукт "Chemizum BH" Активність-1000 од., рН= 8,3÷8,8, температура дії 32–36°C.

2. Фермент українського виробництва – *Bacilus sp.*. Фермент *Bacilus sp.* отриманий при культивуванні бактеріального шлему. Розроблений інститутом мікробіології і вірусології НАН України.

На рис. 1 наведена залежність відносної деформації напівфабрикату шкіри, оброблених *Bacilus sp.* та *Chemizum BH*, від рН середовища, у якому відбувся процес м'якшення. Деформація визначалась наступним чином: шкіряні зразки витягувались, потім витримувались в витягнутому стані, далі знімалося навантаження та зразки витримувались у вільному стані, після цього визначалася відносна деформація зразків.

Деформація під дією навантаження голини і після зняття навантаження найбільша в голині пром'якшеної за допомогою *Bacilus sp.* в католіті (крива 1) і становить 30–39%, а найменша в аноліті. Подібна ситуація спостерігається на кривій 2, де процес проведений з використанням *Chemizum BH*, але значно менші (в католіті на 9%, а в аноліті – 1–4%). А деформація після зняття навантаження має аналогічні результати (крива 3,4), але з малим коливанням (1%) при різних значеннях рН. Результати дослідження надають змогу визначити ефект м'якшення, голини в різних середовищах з використанням ферментів. Крім цього, можна зазначити, що *Bacilus sp.* дає більш сильну деструкційну дію на голину в порівнянні з *Chemizum BH*. Особливо це характеризує деформація під дією навантаження. Вимірювання деформації

зразків голини після навантаження показали подібну закономірність, але з меншим відхиленням дії *Vacillus sp.* та *Chemizum BH* ферментів.

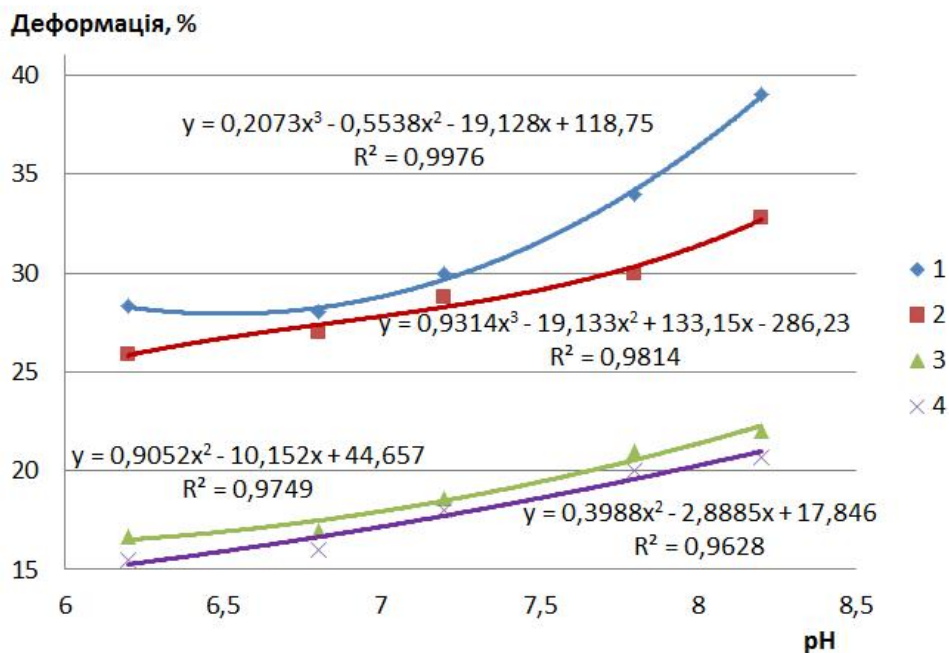


Рис. 1 Залежність відносної деформації напівфабрикату шкіри після процесу м'якшення від pH: 1. Розчин *Vacillus sp.* під дією навантаження. 2. Розчин *Chemizum BH* під дією навантаження. 3. Розчин *Vacillus sp.* після зняття навантаження. 4. Розчин *Chemizum BH* після зняття навантаження

Для аналізу отриманої готової шкіри обробленої електроактивованою водою (католітом) з використанням різних ферментів (*Chemizum BH* та *Vacillus sp.*), зробили ІЧ-спектрограми [6].

Таблиця 1

Відносна оптична густина в діапазоні 3800–2600 cm^{-1}

Фермент	Відносна оптична густина при частоті, cm^{-1}					
	3336	3079	2952	2925	2869	2854
<i>Vacillus sp.</i>	1,58	0,79	1,23	1,67	0,89	1,00
<i>Chemizum BH.</i>	1,33	0,66	1,12	1,64	0,82	1,00

Таблиця 2

Відносна оптична густина в діапазоні 1800–400 cm^{-1}

Фермент	Відносна оптична густина при частоті, cm^{-1}								
	1657	1533	1448	1332	1236	1162	1084	1036	607
<i>Vacillus sp.</i>	1,77	1,20	1	0,55	0,68	0,52	0,64	0,53	0,39
<i>Chemizum BH.</i>	1,66	1,14	1	0,58	0,70	0,64	0,82	0,68	0,35

Аналіз цих таблиць та оброблених спектрограм (рис. 2) свідчить про вплив виду ферментів на відносну оптичну густина досліджуваних зразків навіть після того, як вони пройшли повний технологічний цикл вичинки. Так, відносна оптична густина при частоті 3336 cm^{-1} , яка відповідає коливанням водневих зв'язків та NH-груп, у разі використання ферменту *Vacillus sp.* у 1,2 рази більша, ніж *Chemizum BH*.

Відносна оптична густина при частоті 3079 cm^{-1} відповідає sp^2 C–H у разі використання *Vacillus sp.* у 1,2 разів більше, ніж *Chemizum BH*.

Відносна оптична густина при частотах 2869, 2925, 2952 cm^{-1} відповідає sp^3 C–H у разі використання ферменту *Vacillus sp.* у 1,2 разу більше, ніж *Chemizum BH*.

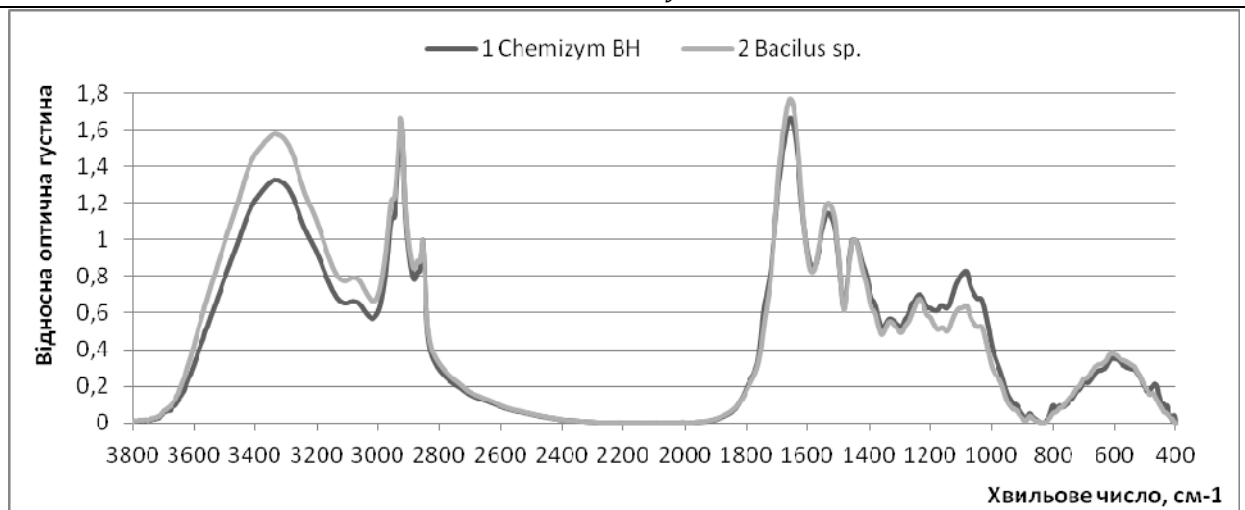


Рис. 2. ІЧ-спектроскопія шкіряних зразків оброблених католітом та: 1) Chemizym BH, 2) Bacillus sp.

До особливостей спектрів можна віднести наявність смуги при частоті 1663 см^{-1} , що відповідає валентному коливанию $\text{C}=\text{O}$ середньої інтенсивності, та смуг при частотах 1084 і 1036 см^{-1} , що властиві деформаційному коливанию $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ середньої інтенсивності, тобто відповідають альдегідній групі. Наявність останньої підтверджується особливостями зварювання зразків шкірної тканини – відновленням їх розмірів після припинення нагрівання, що дозволяє передбачити участь цих сполук з колагеном разом з солями хрому під час дублення. Наявність термостійких зв'язків колагену дерми з сіллю хрому можна оцінити по зміні оптичної густини при частоті колювання хвилі 1084 см^{-1} .

На підставі отриманих даних відносної деформації напівфабрикату шкіри, та аналізу структури шкіри за допомогою ІЧ-спектроскопії, можна зробити висновок, що у подальшій роботі варто провести детальні дослідження по визначенню оптимального водяного середовища для проведення процесу м'якшення на основі ферменту *Bacillus sp.*

З метою визначення характеру впливу розчинів ферментів у електроактивованих середовищах на структуру шкіри, досліджувались фотографії отриманих зразків, які представлені на рис. 3 та відзняті за допомогою мікроскопу Біолам Ломо Д11 У11.

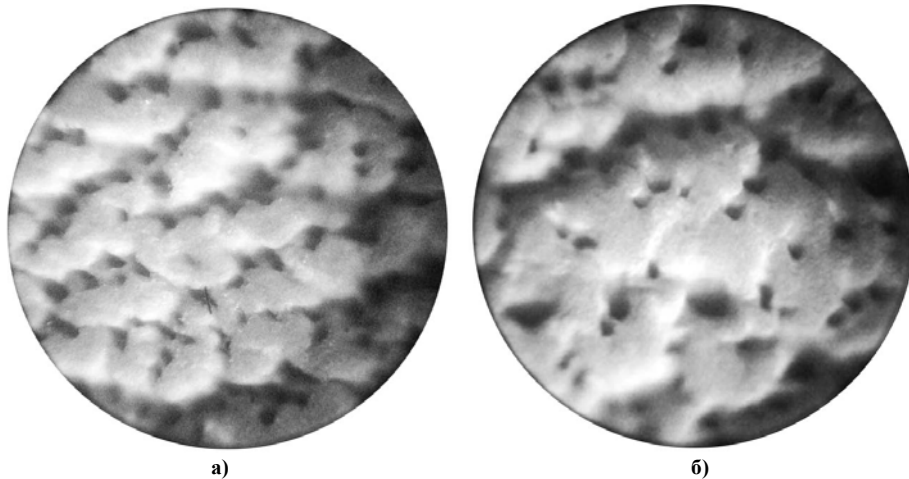


Рис. 3 Фотографії шкіри, пром'якшеної у розчині *Bacillus sp.* та: а) дистильованій воді б) католіті

На отриманих фотографіях видно що, більш щільна структура спостерігається у зразках оброблених у розчині на основі дистильованої води, найменш щільна структура утворилася у розчинах на основі католіту. Щільність вказує на те, що з її збільшенням деформаційні властивості шкіри зменшуються.

Для підтвердження того, що деформаційні властивості шкіри, обробленої ферментом *Bacillus sp.* у електроактивованій воді (католіт) мають найкращий результат. Дослідженні релаксаційно-деформаційні залежності визначення впливу різних розчинів на основі ферменту *Bacillus sp.* наведені на рис. 4.

З вищенаведеного рисунка видно, що у разі використання ферменту *Bacillus sp.* деформація шкіри при обробці католітом більша на 12% в порівнянні з дистильованою водою та на 15% в порівнянні з анолітом. Таким чином, найкращий ефект пром'якшення досягається у випадку обробки шкіри у електроактивованій воді (католіт) з використанням ферменту Протеаза.

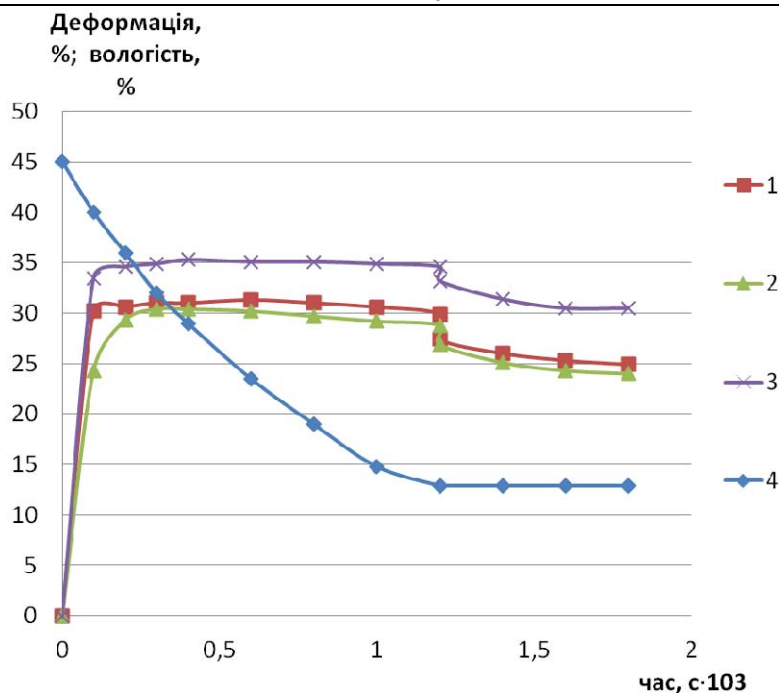


Рис. 4 Залежність деформації, вологості шкіряних зразків, оброблених *Bacillus sp.*, від часу, протягом якого зразки нагрівали: 1. Дистильована вода та фермент. 2. Аноліт та фермент. 3. Католіт та фермент. 4. Зміна вологості зразків

Висновки

Результати отримані в даній роботі, які пов'язані з фізико-механічними дослідженнями напівфабрикату шкіри, іч-спектроскопією та мікроскопією готової шкіри, а також деформаційно-релаксаційними залежностями, дають змогу стверджувати, що найкращий результат м'якшення спостерігався на всіх етапах дослідження при використанні розчину основаного на *Bacillus sp.* та електроактивованій воді (католіт). Виходячи з отриманих даних, при проведенні процесу м'якшення дерми можна рекомендувати фермент *Bacillus sp.* для використання у виробництві.

Література

1. Taylor M.M., Bailey D.G., Fearheller S.H. A review of the uses of enzymes in the tannery. J Am Leath Chem Assoc – 1987. №82. – P. 153–165.
2. Purushotham H., Malathi S., Rao P.V., Rai C.L., Immanuel M.M., Raghavan K.V. Dehairing enzyme by solid–state fermentation. J Soc Leath Technol Chem. 1996. № 80. – S. 52–56.
3. Касьян Е.Є. Основи технології шкіри та хутра : [навч. посібник] / Касьян Е.Є. – К. : КНУТД, 2001. – 252 с.
4. Варбанець Л.Д. Протеолітичні ферменти мікроорганізмів та методи їх дослідження / Л.Д. Варбанець, О. В. Мацелюх. – К., 2008. – С. 5–30.
5. Vasudeo Zambare, Smita Nilegaonkar, Pradnya Kanekar. Application of protease from *Bacillus cereus* MCM B-326 as a bating agent in leather processing. The ІІОАВ Journal. 2010. № 1(3). P. 18–21.
6. Смит А. Прикладная ИК-спектроскопия / Смит А. – М. : Мир, 1982. – С. 135–150.

References

1. M.M. Taylor, D.G. Bailey and S.H. Fearheller, A review of the uses of enzymes in the tannery, J Am Leath Chem Assoc, 1987, volume (82), pp. 153–165.
2. H. Purushotham, S. Malathi, P.V. Rao, C.L. Rai, M.M Immanuel and K.V. Raghavan, Dehairing enzyme by solid–state fermentation, J Soc Leath Technol Chem, 1996, volume(80), pp. 52–56.
3. E.Ye. Kas'ian, Osnovy tekhnologii shkiry ta khutra, navch. posibnyk, Kiev, KNUVD, 2001, pp. 252.
4. L.D. Varbanets and O.V. Matseliukh, Proteolitychni fermenty mikroorganizmiv ta metody yikh doslidzhennia, Kiev, 2008, pp. 5-30
5. V. Zambare, S. Nilegaonkar and P. Kanekar, Application of protease from *Bacillus cereus* MCM B-326 as a bating agent in leather processing, The ІІОАВ Journal, 2010, volume 1(3), pp. 18-21.
6. Smith, Prikladnaia IK-spektrskopiia, Moscow, Mir, 1982, pp. 135-150.

Рецензія/Peer review : 4.02.2013 р.

Надрукована/Printed : 7.4.2013 р.

Рецензент: кафедра електромеханічних систем Київського національного університету технологій та дизайну д.т.н., проф Петко І.В.