Ciljane modifikacije svojstava goveđih koža primjenom plazme i ekološki prihvatljivog antimikrobnog sredstva

Ištef, Katarina

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Textile Technology / Sveučilište u Zagrebu, Tekstilno-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:201:750558

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Faculty of Textile Technology University of Zagreb - Digital Repository

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

TEKSTILNO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

CILJANE MODIFIKACIJE SVOJSTAVA GOVEĐIH KOŽA PRIMJENOM PLAZME I EKOLOŠKI PRIHVATLJIVOG ANTIMIKROBNOG SREDSTVA

Katarina Ištef

Zagreb, rujna 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

TEKSTILNO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

Zavod za materijale, vlakna i ispitivanje tekstila

DIPLOMSKI RAD

CILJANE MODIFIKACIJE SVOJSTAVA GOVEĐIH KOŽA PRIMJENOM PLAZME I EKOLOŠKI PRIHVATLJIVOG ANTIMIKROBNOG SREDSTVA

Katarina Ištef

Izv. prof. dr. sc. Sanja Ercegović Ražić

Katarina Ištef: 10972/TTI-TKME

Zagreb, rujna 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Rad je izrađen na Zavodu za materijale, vlakna i ispitivanje tekstila, Sveučilišta u Zagrebu,Tekstilno-tehnološkom fakultetu.

Voditelj rada: izv. prof. dr. sc. Sanja Ercegović Ražić

Neposredni voditelj: Jelena Peran, mag. Ing. techn. text.

Broj stranica: 86

Broj slika: 64

Broj tablica: 14

Broj jednadžbi: 2

Broj literaturnih izvora: 81

Jezik teksta: hrvatski

Članovi povjerenstva:

1. Prof. dr. sc. Zenun Skenderi, Sveučilište u Zagrebu, Tekstilno-tehnološki fakultet - predsjednik povjerenstva
2. Izv. prof. dr. sc. Sanja Ercegović Ražić, Sveučilište u Zagrebu, Tekstilno-tehnološki fakultet - član
3. Izv. prof. dr. sc. Sandra Flinčec Grgac, Sveučilište u Zagrebu, Tekstilno-tehnološki fakultet - član
4. Doc. dr. sc. Tomislav Ivanković, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek - zamjenik člana

Datum obrane: 26. rujna 2019. godine

Tema diplomskog rada *"Ciljane modifikacije svojstava goveđih koža primjenom plazme i ekološki prihvatljivog antimikrobnog sredstva"* prihvaćena je na 10. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Sveučilišta u Zagrebu Tekstilno-tehnološkog fakulteta, održanoj 17. lipnja 2019. godine.

Rad je pohranjen u knjižnici Tekstilno-tehnološkog fakulteta u Zagrebu, Prilaz Baruna Filipovića 28a, u tiskanom i digitalnom zapisu.

Ovaj rad je izrađen u Zavodu za materijale, vlakna i ispitivanje tekstila Tekstilno-tehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Sanje Ercegović Ražić. Dio ispitivanja vezan uz analizu površine ispitivanih uzoraka proveden je u suradnji s Naravoslovnotehniškom fakultetom v Ljubljani, Oddelek za tekstilstvo, grafiko in oblikovanje, Ljubljana (Slovenija) u suradnji s doc. dr. sc. M. Gorjanc. Dio istraživanja vezan uz analizu svojstava uzoraka kože provedena je na Zavodu za tekstilnu kemiju i ekologiju, pri TTF-u uz stručnu pomoć izv. prof. dr. sc. S. Flinčec Grgac, izv. prof. dr. sc. A. Tarbuk i izv. prof. dr. sc. A. Sutlović. Dio istraživanja vezan uz antimikrobna svojstva uzoraka koža proveden je na Zavodu za mikrobiologiju, PMF-a Sveučilišta u Zagrebu uz stručnu pomoć i suradnju s doc. dr. sc. T. Ivankovićem.

Zahvala

Zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Sanji Ercegović Ražić na ukazanom povjerenju i nesebičnoj pomoći pri izradi rada, na pruženoj potpori i ustupanju svih potrebnih informacija za njegovu izradu.

Posebno zahvaljujem asistentici Jeleni Peran, mag.ing.tech.text. na ustupljenom povjerenju, savjetima i pomoći.

Zahvaljujem dipl. ing. Jadranki Akalovć na stručnoj pomoći u analizi rezultata vezanih uz područje kože i uspljenim uzorcima kože za provedbu istraživanja.

Iskreno zahvaljujem doc. dr. sc. Mariji Gorjanc na suradnji u okviru ovog istraživanja s Naravoslovnotehniškog fakulteta v Ljubljani, Oddelek za tekstilstvo, grafiko in oblikovanje, Ljubljana (Slovenija).

Iskreno zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Sandri Flinčec Grgac, izv. prof. dr. sc.Aniti Tarbuk i izv. prof. dr. sc.Ani Sutlović na suradnji, ustupljenom povjerenju, savjetima i pomoći.

Zahvaljem doc. dr. sc.Tomislavu Ivankoviću sa Zavoda za mikrobiologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta na stručnoj pomoći i suradnji.

Zahvaljujem svojoj obitelji, prijateljima i mom Giju na pruženom razumijevanju, strpljenju i ljubavi prilikom pisanja ovog rada.

Zahvaljujem se i prof. dr. sc. Zenunu Skenderiju, voditelju projekta u okviru kojega je realiziran ovaj rad.

Zahvaljujem se tvrtki Viviani d.o.o. na ustupljenim i pripremljenim uzorcima kože.

Ovaj je rad financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom (IP-2016-06-5278).

Rad je financirala Slovenska razvojna agencija, Slovenija (Infrastrukturni centar RIC UL-NTF).

Popis simbola

t	vrijeme	[s,min,h]
q	protok plina	[cm^3/min]
p	tlak	[mbar]
P	snaga	[W]
f	frekvencija	[kHz]
l	dužina	[mm]
h	širina	[mm]
CFU	količina kolonija bakterija u mililitru uzorka	[ml^{-1}]
$WT_{T,B}$	vrijeme kvašenja	[s]
$AR_{T,B}$	brzina apsorpcije	[%/s]
$MWR_{T,B}$	maksimalni radijus apsorpcije	[mm]
$SS_{T,B}$	brzina razlijevanja kapi	[mm/s]
R	sposobnost kumulativnog jednosmjernog transporta	[%]
$OMMC$	ukupna sposobnost prijenosa tekućine	[/]
ΔE^*	ukupna razlika u boji	[/]
H	zona inhibicije	[mm]

Sadržaj

1. UVOD 1
1.1. Hipoteza i ciljevi rada 2
I. TEORIJSKI DIO 3
2. Plazma 3
2.1. Definiranje plazme 3
2.2. Klasifikacija plazmi 4
2.3. Mehanizam djelovanja plazmi i modifikacija površine supstrata 7
2.4. Parametri plazme i njihov utjecaj na svojstva tekstilnog materijala 11
3. Antimikrobne obrade 12
3.1. Primjena hitozana kao antimikrobnog sredstva 13
4.Koža - jedinstveni biološki materijal 15
4.1. Općenito o koži 15
4.2. Građa kože 15
4.2.1. Kemijska građa kože 17
4.2.2. Morfološka građa kože 23
4.3. Procesi prerade kože 25
4.3.1. Pripremni procesi 26
4.3.2. Štavljenje kože 28
4.3.3. Dorada koža 33
4.4. Ekološki aspekti s obzirom na procese prerade kože 34
II. EKSPERIMENTALNI DIO 35
Zadatak i plan provedbe istraživanja 35
5. Materijali i metode ispitivanja 37
5.1. Karakterizacija ispitivanih uzoraka kože 37
5.2. Procesi predobrade površine kože niskotlačnom plazmom 38
5.2.1. Predobrada površine kisikovom (O_2) plazmom 38
5.2.2. Predobrada površine argonovom (Ar) plazmom 39
5.3. Sredstva za obradu uzoraka kože 40
5.3.1. Proces polimerizacije sredstva direktno u komori plazme 40
5.3.2. Antimikrobna obrada kože ekološkim sredstvom hitozanom 41
5.4. Metode ispitivanja 41
5.4.1. Ispitivanje hidrofilnosti uzoraka kože 42
5.4.2. Analiza morfologije uzoraka primjenom SEM mikroskopije 45
5.4.3. FTIR-ATR analiza 46

5.4.4. Ispitivanje propusnosti otopine znoja 47
5.4.5. Određivanje razlike u obojenosti uzoraka nakon močenja 47
5.4.6. Antimikrobna učinkovitost kože primjenom kvalitativnog mikrobiološkog testa.....48
6. REZULTATI I RASPRAVA.....50
6.1. Rezultati ispitivanja hidrofilnosti uzoraka.....50
6.1.1. Test kapi.....50
6.1.2. Rezultati ispitivanja sposobnosti prijenosa tekućine kroz uzorak 51
6.2. Rezultati analize morfologije uzoraka primjenom SEM mikroskopije 58
6.3. Rezultati FTIR-ATR analize funkcionalnih skupina.....66
6.4. Rezultati ispitivanja propusnosti znoja.....70
6.5. Rezultati određivanja obojenosti vegetabilno štavljenih uzoraka nakon močenja 71
6.6. Rezultati određivanja antimikrobne učinkovitosti uzoraka kože 73
7. Zaključci 77
8. LITERATURA.....79
SAŽETAK.....85
SUMMARY.....86

1. UVOD

Kožarska industrija jedan je od najvećih zagađivača okoliša te je potrebno razvijati ekološki prihvatljive postupke prerade kože. Veliki problem predstavlja i provedba zadovoljavajućih obrada, koje se uglavnom provode konvencionalnim postupcima, a najčešće su veoma štetni za okoliš. Primjena plazme kao medija za provedbu modifikacija svojstava predstavlja prihvatljivo rješenje jer bi se njenom primjenom mogli ako ne u potpunosti zamijeniti, barem skratiti vrijeme obrade i uporaba velikih količina vode i kemikalija u svrhu postizanja željenih svojstava. Jedna od prednosti hladne plazme je njena primjenjivost na sve vrste materijala, te mogućnost različitih modifikacija bez negativnih utjecaja na osnovna (mehanička) svojstva materijala, i bez velike potrošnje kemikalija i energije.

Obradama kože plazmom dolazi do modifikacija u površinskom sloju, do tzv. čišćenja površine i njene aktivacije čime se postiže bolja hidrofilnost (apsorptivnost) za neke nove kemijske reakcije. Plazmom pri niskom tlaku je moguće nanašati kemijska sredstva u monomernom obliku koja imaju sposobnost polimerizacije sa supstratom, pri čemu može doći do nacjepljivanja ili umrežavanja sredstva na površini, sa svrhom postizanja i/ili poboljšavanja funkcionalnih svojstava.

Mikroorganizmi imaju značajan, nerijetko negativan utjecaj na ljudsko zdravlje u vidu razvoja neugodnih mirisa, mrlja te kožnih i gljivičnih oboljenja stoga danas postoji jako veliki broj različitih antimikrobnih sredstava. U posljednje je vrijeme na značaju kao antimikrobno sredstvo dobiva hitozan zbog svoje izvrsne biokompatibilnosti i biorazgradivosti, odličnih antimikrobnih svojstava te velike dostupnosti u prirodi. Stoga je i u ovom radu primijenjen kao antimikrobno sredstvo uz ekološki prihvatljivu tehnologiju hladne niskotlačne plazme na goveđe kože štavljene različitim sredstvima u fazi proizvodnje. Priređena otopina hitozana nanesena je na predobrađene goveđe kože metodom horizontalnog prskanja sredstva s ciljem postizanja antimikrobne učinkovitosti spram ciljanih gram pozitivnih (*Staphylococcus aureus*) i gram negativnih (*Klebsiella pneumoniae*) bakterijskih vrsta.

Gotova koža je proizvod koji nastaje obradom sirove životinjske kože u procesu štavljenja različitim sredstvima od kojih su najprimjenjivanija kromna štavila, tijekom kojeg ona postaje trajnija i podatnija. Štavila su sredstva koja kemijski reagiraju s molekulom kolagena koja izgrađuju kožu, stabilizirajući trostruku spiralnu strukturu jezgre kolagena, čime se postiže otpor kože prema kemijskoj, toplinskoj i mikrobiološkoj razgradnji. Složene je morfološke strukture te je njena prerada izrazito kompleksna i zahtjeva provođenje mnogih procesnih koraka, od kojih je naglasak na štavljenju u kojem ona dobiva svoja karakteristična i jedinstvena svojstva.

Naglasak ovog rada je na ekološki prihvatljivom pristupu procesa obrade štavljenih koža koje nisu prošle sve faze prerade, s ciljem postizanja zadovoljavajućih funkcionalnih svojstava, s

naglaskom na sorpcijska (upijanja i propusnosti (transporta) tekućine) i antimikrobna svojstva s ciljem postizanja zadovoljavajuće kvalitete gotovog proizvoda potrebnih uporabnih svojstava, modifikacijama površine kože plazmom i ekološkim sredstvom hitozanom. Glavni cilj je postići željena svojstva ekološki prihvatljivim postupcima uz što manji utrošak energije i kemikalija te maksimalno očuvanje prirodnih resursa, sa svrhom zaštite okoliša i ljudskog zdravlja.

1.1. Hipoteza i ciljevi rada

H1: Provedbom modifikacija površine ispitivanih uzoraka goveđih koža predobradom kisikovom i argonovom plazmom u optimiranim uvjetima može se doprinjeti poboljšanju funkcionalnih i uporabnih svojstava, ovisno o krajnjoj namjeni kože.

Cilj 1: Poboljšati hidrofilna svojstva ispitivanih uzoraka koža modifikacijom površine predobradama plazmom u optimiranim uvjetima.

Cilj 2: Poboljšati/postići antimikrobnu učinkovitost ispitivanih koža ekološki prihvatljivim postupcima predobrade/obrade u plazmi uz naknadne obrade hitozanom - prirodnim antimikrobnim sredstvom.

I. TEORIJSKI DIO

2. Plazma

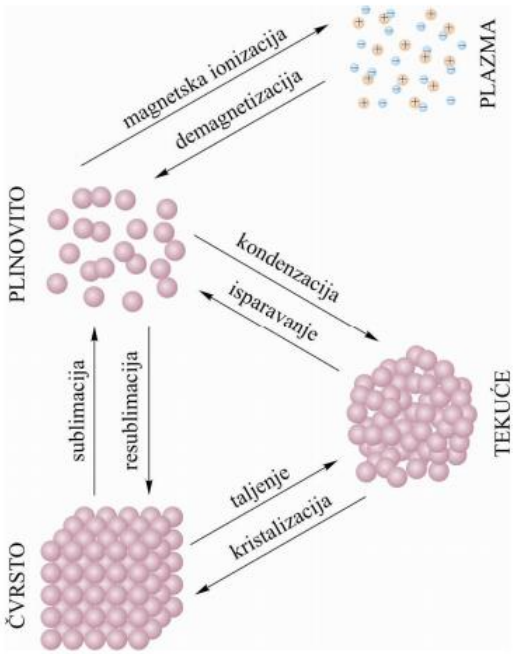
2.1. Definiranje plazme

Plazma se definira kao ionizirani plin koji se sastoji od električki nabijenih čestica poput elektrona, iona, radikala i fotona [1, 2]. Plazma ima jedinstvena kemijska i fizikalna svojstva koja nastaju uslijed međusobnih interakcija nabijenih čestica, sa neutralnim plinom i u kontaktu sa površinom te se razlikuje od ostalih agregatnih stanja. Smatra se četvrtim agregatnim stanjem materije, koje je znatnije pobuđeno naspram ostalih agregatnih stanja. Plazma je kvazineutralna, a to znači da sadrži jednak broj pozitivno nabijenih iona i negativno nabijenih elektrona [1-3].

Naziv plazma (*grč. 'plasso'*) je prvi upotrijebio američki kemičar Irvin Langmuir 1928. godine, što bi u prijevodu značilo samooblikovanje materijala. Ovaj pojam upotrijebio je kako bi opisao unutarnje područje električnog pražnjenja. Kasnije se definicija širi kako bi opisala stanje materije u kojem je značajan broj atoma i molekula električki nabijeno ili ionizirano. Komponente koje sačinjavaju plazmu su ioni, slobodni elektroni, fotoni, neutralni atomi i molekule u osnovnom i pobuđenom stanju [1, 4].

Za pobuđivanje čestica i nastanak plazme potrebna je vanjska energija koja može biti porijeklom iz različitih izvora: termalna, električna, svjetlosna. Plazma se pretvara u neutralni plin kada ne posjeduje dovoljnu snagu održavanja [5].

Do promjena agregatnog stanja dolazi povećanjem temperature krutih tvari koje uzrokuje intenzivno gibanje dijelova molekula. One počinju napuštati svoje mjesto određeno potencijalnom energijom te dolazi u prelaska u tekuće stanje. Pri daljnjem zagrijavanju dolazi do porasta kinetičke energije koja postaje veća od njihove potencijalne energije, molekule se sudaraju i razdvajaju na atome te prelaze u plinovito stanje. Kada temperature porastu na nekoliko tisuća stupnjeva, sudari atoma postaju sve intenzivniji te se oslobađaju elektroni, a kao posljedica nastaju negativno nabijeni elektroni i pozitivno nabijeni ioni. Te električki nabijene čestice prilikom gibanja stvaraju električna i magnetska polja čime se dobiva energija potrebna za daljnju ionizaciju atoma te nastaje stanje gotovo potpuno ionizirane tvari koje se naziva plazma [1, 2]. Slika 1. shematski prikazuje opisane promjene agregatnih stanja tvari.



Slika 1. Prikaz prijelaza stanja tvari [6]

2.2. Klasifikacija plazmi

S obzirom na brojnost vrsta i oblika plazmi, postoji više kriterija podjele kao što su prema vrsti nastanka, vrsti plina, tlaka i temperaturi pri kojoj se provode obrade [2, 7, 8]. Za nastanak plazme potreban je plin. Tlak zadanog plina ima velik utjecaj na svojstva plazme, kao i na vrstu opreme potrebnu za stvaranje plazme, stoga se plazma moze klasificirati na niskotlačne, visokotlačne te atmosferske plazme [8].

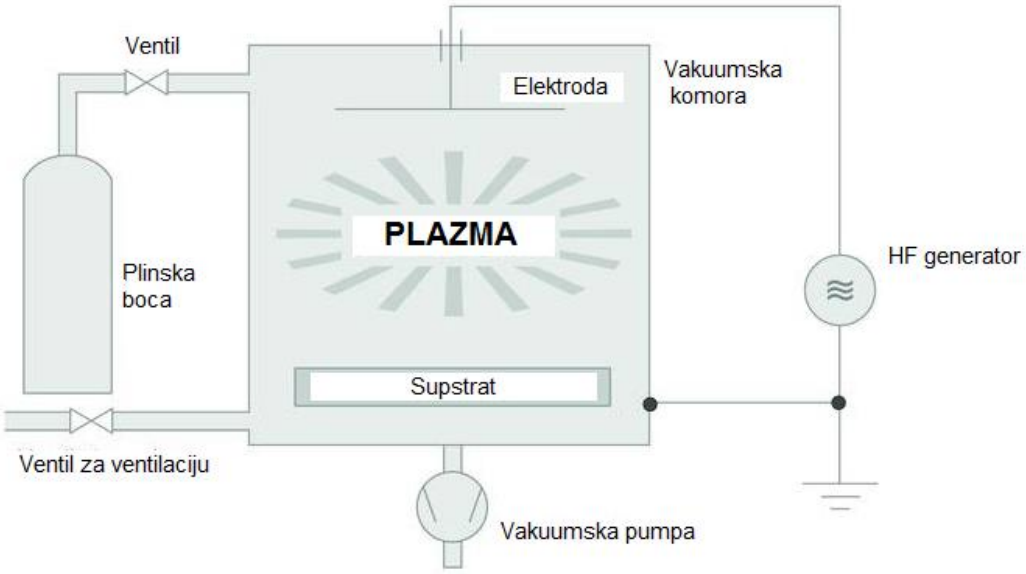
Visokotlačne ili ravnotežne, vruće plazme su one kod kojih postoji termalna ravnoteža između elektrona i ionskih čestica [9]. Termalne se plazme koriste u industriji gdje se upotrebljavaju na temperaturama 1000 do 10000 K i nisu prikladne za obrade tekstilnih materijala. Karakteristika termalnih plazmi je da su elektroni, ioni i neutroni sličnih temperatura te su u termodinamičkoj ravnoteži [3].

Niskotlačne i atmosferske plazme spadaju u hladne plazme ili neravnotežne plazme. Niskotemperaturna plazma je djelomično ionizirani plin kod kojeg je temperatura elektrona mnogo viša od temperature iona. Visoko-energetski elektroni i niskoenergetske molekule mogu inicirati reakcije u plazmi bez suviška energije koja uzrokuje degradaciju supstrata. Kod takvih plazmi nije postignuta termodinamička ravnoteža između elektrona i čestica viših masa (neutralni atomi, ioni, fragmenti neutralnih molekula). S obzirom na to da slobodni elektroni čine manje od milijuntog dijela ukupne mase sustava, oni imaju neznatan toplinski kapacitet te je tako stvarni sadržaj topline plazme veoma nizak. Međutim, ovi visokoenergetski elektroni su ključni za snagu plazme i njezinu sposobnost modifikacije površine supstrata [3]. Ova vrsta

plazme se koristi za inkorporiranje kemijski aktivnih funkcionalnih skupina na površinu tekstilnog materijala, poboljšavajući različita svojstva materijala kao što su hidrofilnost, bolja adhezijska svojstva, čišćenje i sterilizacija površine te bolja sposobnost kvašenja [9,10].

Niskotlačna plazma je vrsta hladne ili neravnotežne plazme kod koje se obrade provode u vakuumskoj komori uz primjenu vakuumske pumpe. One mogu nastati upotrebom plemenitih plinova te kemijski reaktivnih plinova poput kisika, dušika i zraka čime je omogućena široka primjena u različitim procesima [8]. Plazma se može proizvesti kada je plin pod dovoljno niskim tlakom te kada u volumenu plina ima dovoljno elektromagnetske energije. Pod tim uvjetima, procesni plin će se djelomično raspasti na elektrone, ione i neutralne čestice uslijed čega će biti djelomično ioniziran. Radni tlak ovog tipa plazme je ispod 0,1 mbar-a, dok se za mikrovalne izvore koristi tlak između 0,5 i 1 mbar-a. Kako bi se provela obrada plazmom u dovoljno čistim uvjetima procesnog plina idealno bi bilo postići osnovni tlak niži od 0,01 mbar [3].

Niskotlačni plazma sustav se sastoji od vakum komore u kojoj se nalaze elektrode i nosači, a veličina uzorka je određena veličinom nosača (slika 2.). Za postizanje niskih tlakova od 0,01 do 1 mbar potrebna je vakuum pumpa. Do stvaranja plazme dolazi prilikom pobude elektrona elektromagnetskim poljem, prilikom čega dolazi do njihove akceleracije te pri dovoljno velikoj kinetičkoj energiji dolazi do nastanka plazme i pojave vidljivog svjetla plave do ljubičaste boje. Prilikom obrade supstrata, aktivne čestice plazme reagiraju s njegovom površinom fizikalno-kemijskim reakcijama što uzrokuje površinske promjene materijala. Nastale promjene ovise o vrsti plina, uvjetima obrade te karakteristikama supstrata [2].



Slika 2. Niskotlačni plazma sustav [11]

Atmosferske plazme se dobivaju pri standardnom atmosferskom tlaku, a s obzirom na tehnologiju generiranja plazmi razlikuju se četiri glavna tipa atmosferskih plazmi [8]:

- pražnjenje koronom (eng. *Corona Discharge*),
- dielektrično barijerno pražnjenje (eng. *Dielectric Barrier Discharge*),
- pražnjenje tinjanjem (eng. *Glow Discharge*) i
- plazmeni mlaz (eng. *Atmospheric Pressure Plasma Jet*).

Pražnjenje koronom je najstarija tehnologija dobivanja atmosferske plazme koja se koristi za modifikacije površina polimera. Nastaje pri atmosferskom tlaku korištenjem sinusoidalnih impulsa pri frekvenciji od nekoliko desetaka kHz te naponu između 10-15 kV između dviju elektroda [9]. Ovakav proces se odvija između dviju elektrodi različite zakrivljenosti, a rezultira nastankom filamentnog oblika plazme s nizom mikronaboja cilindričnog oblika [4, 12]. Filamentni oblik plazme može uzrokovati nejednoličnu obradu supstrata [9].

Dielektrično barijerno pražnjenje nastaje primjenom impulsnog napona na paru elektroda od kojih je barem jedna obložena slojem dielektričnog materijala koji akumulira preneseni naboj na svojoj površini [9, 13]. Svrha dielektričnog sloja je ograničavanje količine naboja prenesenog jednim mikro-pražnjenjem te raspodjela naboja preko cijelog područja elektrode. Poput korona sustava, dielektrično barijerno pražnjenje može rezultirati filamentnim oblikom plazme, no moguće je i dobivanje jednolične plazme [9]. Ovaj tip plazme ima veliki omjer površine spram volumena što omogućuje gubitke difuzije i održavanje niske temperature plina. Međutim, primjena ovakvog sustava je ograničena zbog malog razmaka između nosača čime je onemogućena obrada velikih i nepravilnih površina [9, 13].

Pražnjenje tinjanjem nastaje primjenom metalnih elektrodi bez prisutstva dielektričnog materijala. Pravilnom konfiguracijom sustava i procesnih parametara nastaje jednolična plazma plemenitih plinova [4, 9].

Plazmeni mlaz je novija tehnika modifikacije površine koja je značajno blaža, ali visokoučinkovita pri sobnoj temperaturi [9]. Ovaj sustav se sastoji od dvije cilindrične elektrode između kojih prolazi radni plin, pri čemu se elektroda koja je spojena na vanjski izvor energije nalazi unutar druge elektrode [14]. Plazmeni mlaz se propuhuje izvan izvora plazme pomoću struje plina, a naknadno svjetlo pražnjenja se koristi za obradu površine [12]. Ovakav plazma sustav može stvoriti jednoličnu plazmu visoke reaktivnosti koja se može primijeniti na različite površine [9].

2.3. Mehanizam djelovanja plazmi i modifikacija površine supstrata

Obrada plazmom predstavlja proces u kojemu energetski aktivne čestice i fotoni sudjeluju u interakciji s površinom supstrata prilikom čega dolazi do stvaranja slobodnih radikala. Za vrijeme ovog procesa dolazi do različitih reakcija čija pojava ovisi o karakteristikama površine supstrata, vrsti plina, konstrukciji uređaja te procesnim parametrima [15].

Za nastanak plazme potrebno je osigurati prijenos energije iz vanjskog izvora do atoma i molekula plina. Ekscitacija, ionizacija, disocijacija te rekombinacija čestica u niskotemperaturnoj plazmi nastaju putem neelastičnih sudara s elektronima, uslijed čega dolazi do reakcija prikazanih u tablici 1. [1, 2].

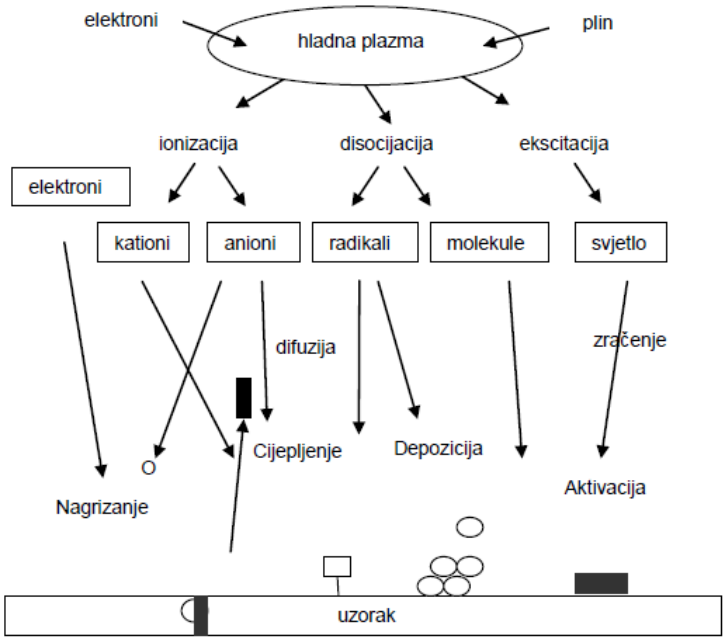
Tablica 1. Reakcije unutar plazme [16]

Reakcija	Jednadžba reakcije	Opis reakcije
Ekscitacija atoma i molekula	$e + A_2 \rightarrow A_2^* + e$ $e + A \rightarrow A^* + e$	atomi i molekule pri sudarima s elektronima prelaze u pobuđeno stanje
Deekscitacija	$e + A_2^* \rightarrow A_2 + e + hv$	molekula emitira elektromagnetsko zračenje pri prijelazu iz pobuđenog u osnovno stanje
Ionizacija	$e + A_2 \rightarrow A_2^+ + e$	nastanak pozitivno nabijenih čestica sudarom elektrona i neutralnih čestica
Disocijacija	$e + A_2 \rightarrow 2A + e$	neelastičnim sudarom elektrona i molekule dolazi do razdvajanja molekule na atome
Rekombinacija	$A^- + B^+ \rightarrow AB$	tvorba atoma spajanjem protona i elektrona
Disocijativno vezanje	$e + A_2 \rightarrow A^+ + A + e$	sudar elektrona i molekule dovodi do nastanka negativnog iona i atoma.

Stvaranju plazme također doprinose elastični sudari te apsorpcija fotona. Tipične reakcije za plazmu su i asocijacija slobodnih radikala, iona i pobuđenih molekula u skupine molekula s različitim strukturama [1].

Kao što je prethodno navedeno, plazma je djelomično ionizirani plin koji se sastoji od visoko pobuđenih atoma, molekula, iona, radikala, fotona i elektrona (slika 3.).

Hladne plazme nastaju pri sobnoj temperaturi, prilikom čega elektroni posjeduju više energije naspram iona i molekula te zbog niske gustoće plina, rijetko dolazi do sudara s ostalim tvarima zbog čega termalna ravnoteža nije postignuta. Sudari elektrona s neutralnim česticama stvaraju dodatne elektrone i ione. Zbog niske temperature pri kojima ove plazme nastaju, one se mogu koristiti za obrađivanje termički osjetljivih tekstilnih materijala [3].



Slika 3. Mehanizam reakcije aktivnih čestica na površinu supstrata [7]

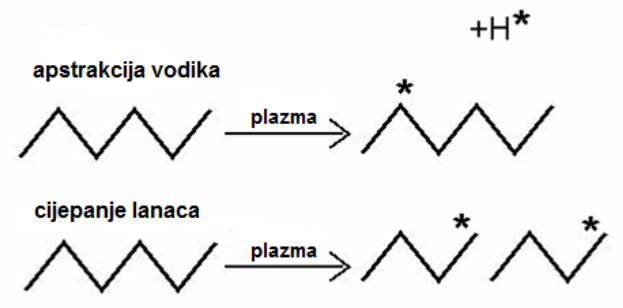
Primjenom plazme mogu se postići modifikacije gornjeg atomskog sloja površine materijala prilikom čega dolazi do željenih modifikacija svojstava, bez utjecaja na osnovna svojstva materijala (čvrstoća, stupanj polimerizacije, voluminoznost i dr.) [4]. Prilikom interakcija aktivnih kemijskih vrsta prisutnih u plazmi s obrađivanim supstratom dolazi do niza fizikalnih i kemijskih reakcija. Unutar plazme, tijekom sudaranja elektrona i putem fotokemijskih procesa, stvara se velika gustoća slobodnih radikala koji uzrokuje razaranje kemijskih veza na površini materijala i u konačnici stvaranje novih kemijskih veza. Dolazi do stvaranja novih funkcionalnih skupina kao što su hidroksilna (–OH) ,karbonilna (–C=O) i karboksilna skupina (–COOH), koje daju hidrofilni efekt tekstilnim supstratima te mogu biti i aktivni centri za nacjepljivanje različitih molekula [2, 3]. Ovakva obrada rezultira željenim površinskim modifikacijama, kao što su aktivacija površine, umrežavanje, nagrizanje površine, oksidacija i dr. Rezultati obrade ovise o vrsti radnog plina, gustoći plazme te energiji [4].

Djelovanje plazme na površinu supstrata se može opisati kroz pet skupina procesa [14]:

- čišćenje površine (eng. *surface cleaning*),
- nagrizanje površine (eng. *plasma etching*),
- aktivacija površine (eng. *plasma activation*),
- polimerizacija (eng. *plasma polimerisation*) te
- funkcionalizacija površine (eng. *functionalisation*).

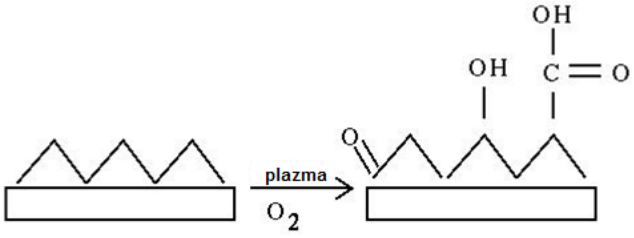
Za proces *čišćenja* se koriste inertni plinovi, poput argona i helija te reaktivni plinovi kao što su kisik i vodik [3, 15]. Uslijed ovog procesa dolazi do 'bombardiranja' supstrata s česticama

plazme koje uzrokuje kidanje kemijskih veza između supstrata i površinskih čestica te odvajanje niskomolekularnih vrsta. Nastaju plinoviti produkti poput ugljikovog dioksida (CO_2) i raznih niskomolekularnih ugljikovodika koji se potom uklanjaju iz plazma sustava [3, 15]. Svrha čišćenja je uklanjanje nečistoća s površinskih slojeva supstrata kao što su ulja, prašine i smole [17, 19]. Djelovanjem iona, slobodnih radikala i elektrona u plazmi na površinske nečistoće dolazi do apstrakcije vodika uz tvorbu slobodnih radikala i repetitivnog cijepanja lanaca sve dok masa tih čestica ne postane dovoljno niska da ispari iz sustava (slika 4.) [17, 18].



Slika 4. Shematski prikaz procesa čišćenja plazmom [17]

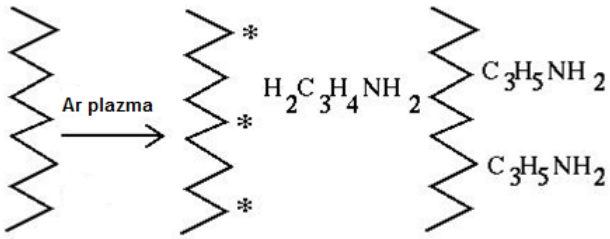
U procesu *aktivacije* površine, plazma može inducirati nastanak aktivnih mjesta na površini polimernog supstrata, koje zatim omogućuju bolju reaktivnost obrađivanog supstrata [3]. Proces se odvija kada se površina obrađuje s reaktivnim plinovima kao što su kisik, amonijak ili dušikov monoksid te ostali plinovi koji ne sadrže ugljik [17]. Dolazi do nastajanja novih funkcionalnih skupina ili slobodnih radikala na površini supstrata. Aktivacija s plinovima koji sadrže kisik rezultira stvaranjem funkcionalnih skupina koje sadrže kisik poput hidroksilne (-OH) i karboksilne skupine (-COOH) (slika 5.) [12]. Aktivacija površine rezultira privremenim povećanjem površinske energije koje povećava afinitet supstrata prema drugim tvarima. Povećanje reaktivnosti marterijala od velikog je značaja, posebice kada su u pitanju sintetski materijali koji ne sadrže veliki broj aktivnih skupina u svojoj strukturi. Aktivacija površine je termodinamički nestabilno stanje te rezultati nisu postojani, stoga je daljnje obrade nužno provesti odmah po završetku obrade plazmom [15].



Slika 5. Aktivacija površine zamjenom vodika u polimernom lancu sa nekom drugom skupinom [17]

Kod procesa *nagrizanja*, reaktivne čestice plazme reagiraju s aktivnim skupinama polimera na površini supstrata [20]. Za nagrizanje se koriste plinovi kao i za proces čišćenja, a rezultat obrade je strukturirana površina visoke hrapavosti [3]. U ovom procesu uobičajeno se koristi kisikova plazma koja istovremeno može uzrokovati i modifikaciju površine supstrata [15].

Funkcionalizacijom površine radikali prisutni u plazmi se mogu trajno nacjepljivati na površinu polimera (slika 6.) [3]. To je proces u kojemu se kemijski neaktivni polimeri prevode u kemijski aktivne putem povezivanja specijalnih i kemijski reaktivnih skupina sa sadržajem kisika, dušika ili sumpora te skupina koje sadrže halogeni element. Kao procesni plin se koristi inertni plin poput argona, a uvođenjem monomera sposobnog za reakciju sa slobodnim radikalima na površini supstrata, dolazi do reakcije nacjepljivanja. Kao monomeri se uobičajeno koriste akrilna kiselina, alil-amin te alil-alkohol. Funkcionalizacija plazmom se zasniva na trajnoj ugradnji funkcionalnih skupina na površinu supstrata [15].



Slika 6. Mehanizam nacjepljivanja monomera na površinu polimera: argonova plazma stvara radikale na lancu te se monomeri nacjepljuju na površinu [17]

Polimerizacijom se nanose anorganske i organske čestice na površinu materijala uz djelovanje plazme. Takav se proces naziva i postupak plazmom pospješene depozicije, PE-CVD (eng. *Plasma enhanced - chemical vapour deposition*). Specifične molekule koje se primjenjuju ovim postupkom mogu reagirati međusobno formurajući polimer direktno na površini supstrata, čime se drastično mijenjaju svojstva supstrata [2, 3]. Ovakvim postupkom trajno se mijenjaju površinska svojstva materijala na koji je polimerni sloj nanesen [17]. Tijekom polimerizacije plazmom dolazi do transformacije monomera u polimere uz pomoć energetskih čestica plazme, kao što su elektroni, ioni i radikali. Polimeri nastali ovim procesom se razlikuju od onih nastalim konvencionalnim postupcima u kemijskim i fizikalnim svojstvima. Polimeri ne uključuju ponavljajuće jedinice monomera, već sadrže složene jedinice koje sadrže umrežene, fragmentirane te izmijenjene oblike monomera [21]. Monomer se dovodi u plazmu u plinovitom stanju koji se zatim pretvara djelovanjem plazme u polimer u plinovitom stanju. Polimer se zatim može naslojiti na supstrat, stvarajući plazma-nanešeni sloj polimera na površini [12].

2.4. Parametri plazme i njihov utjecaj na svojstva tekstilnog materijala

S obzirom na raznolikost površina koje podliježu obradama plazmom, potrebno je optimirati procesne parametre, kao što su vrsta upotrijebljenog plina, protok plina, vrijeme obrade, snaga radna frekvencija uređaja, tlak te razmak između elektrode i površine supstrata [2]. Morfološke i topografske promjene uvelike se razlikuju i ovise o procesnim parametrima plazme stoga ih je potrebno optimirati ovisno o vrsti materijala [23].

- *Utjecaj tlaka*

Gustoća molekula plina prisutnih u plazmi je direktno proprocionalna tlaku. Pri tlaku nižem od 1 mbar-a, radikali djeluju samo na površinu supstrata te su gubitci uzrokovani sudarima u plinskoj fazi svedeni na minimum te je takva obrada veoma učinkovita. S druge strane, obrade na nižem tlaku uzrokuju veoma nisku koncentraciju aktivnih čestica po jedinici volumena. U području višeg tlaka, gustoća plina je velika , a zbog male udaljenosti čestice reagiraju međusobno te ne uspjevaju dospjeti na reakcijska mjesta unutar voluminoznih tekstilnih materijala. Prema ovim pretpostavkama, za optimalne obrade tekstilnih materijala poželjan je tlak između 1 i 100 mbar-a [22].

- *Utjecaj vrste plina*

Vrste reakcija između plazme i površine supstrata ovise o vrsti upotrijebljenog plina i njegovim fizikalno-kemijskim svojstvima. Plinovi koji se uobičajeno koriste za stvaranje plazme mogu biti kemijski inertni (helij, argon) te kemijski reaktivni (amonijak, dušik, kisik, tetrafluoretilen i drugi). Izborom plina za stvaranje plazme mogu se ugraditi različite funkcionalne skupine. Primjenom kemijski intertnih plinova nastaju čestice visoke energije koje se sudaraju sa površinom supstrata pri čemu kidaju kovalentne veze što rezultira uklanjanjem vanjskog površinskog sloja [2, 18].

- *Utjecaj vremena*

Na debljinu nanesenog polimernog sloja može se utjecati vremenom naslojavanja. Porastom vremena raste debljina nanesenog sloja,a nakon postizanja određene debljine soja može doći do porasta unutrašnje napetosti i u konačnici do pucanja ili delaminacije filma [1].

- *Utjecaj vrste supstrata*

Tekstilni materijali mogu biti prirodnog ili sintetskog porijekla, prilikom čega prirodne tekstilne materijale karakterizira nejednolikost kemijskog sastava, dok kod sintetskih to nije slučaj. Zbog nehomogenosti kemijskog sastava prirodnih vlakana, obrada plazmom također neće biti jednolična. Obrada plazmom je ograničena na površinski sloj tekstilnih supstrata te aktivne

čestica plazme ne mogu prodrijeti u unutrašnjost tekstilije. Tekstilni su materijali sastavljeni od isprepletenih vlakana koja utječu na neravnomjernost površine, a iz čega proizlazi velika specifična površina takvih materijala. Stoga je ukupna površina tekstilnog materijala koju je potrebno obraditi veća u usporedbi s drugim materijalima ravne površine, poput metala [16].

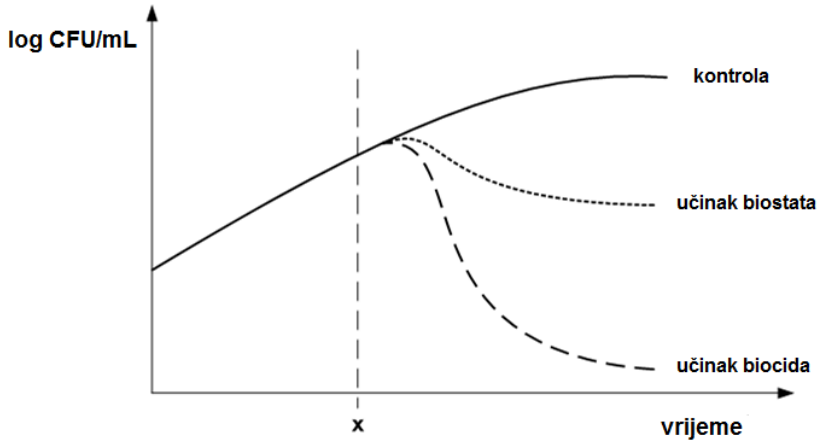
Koža je jedinstveni biomaterijal sa trodimenzijskom fibrilarnom strukturom. Sastoji se od tankog papilarnog sloja koje sadrži tanka vlakna kolagena te od debljeg retikularnog sloja građenog od većih vlakana kolagena. Stabilizacija kože se postiže procesom štavljenja, od kojih je najraširenije štavljenje kromom. Tako dobivena koža ima nisku površinsku energiju sa nedostatkom reaktivnih –OH skupina. Aktivacijom plazmom uklanjaju se površinske nečistoće te se fukncionalizira površina sa hidroksilnim, karboksilnim te karbonilnim funkcionalnim skupinama. Ovakva obrada omogućuje bolju kvasivost i vezivanje polimera sa ostalim materijalima, što je značajno kod korištenja kože za obuću gdje se koža vezuje sa različitim sintetskim materijalima. Za obrade se mogu koristiti i niskotlačne i atmosferske plazme. Primjena niskotlačnih plazmi je poželjna za obrade koža jer omogućuje stabilnost procesa, dobru učinkovitost te homogenost obrade. U posljednje vrijeme raste upotreba atmosferskih plazmi bez upotrebe skupe vakuumske opreme te su istraživanja pokazala da se takvim obradama mogu poboljšati adhezijska svojstva [24].

3. Antimikrobne obrade

Antimikrobne obrade se provode u svrhu sprječavanja štetnog djelovanja mikroorganizama sa različitim sredstvima, a čije su glavne funkcije zaštita materijala od oštećenja uzrokovanih djelovanjem mikroorganizama te sprječavanje neugodnih mirisa tijekom nošenja, obezbojenja, čvrstoće i drugih korisnih svojstava. Kako bi se ostvarila što bolja učinkovitost ovih obrada, potrebno je zadovoljiti sljedeće kriterije [25]:

- Niska toksičnost za ljudski organizam bez izazivanja alergijskih reakcija i kožnih iritacija
- Obrada mora biti u skladu sa propisanim regulacijama te imati minimalni učinak na okoliš
- Učinkovitost na široki spektar bakterija i gljivica
- Obrada ne smije uništavati floru nepatogenih bakterija prisutnih na ljudskoj koži koji predstavljaju prirodnu zaštitu od patogenih mikroorganizama
- Obrada treba biti postojana na postupke održavanja
- Ne smije imati utjecaj na kvalitetu materijala te po mogućnosti biti kompatibilna sa kemijskim sredstvima koja se primjenjuju u postupcima oplemenjivanja
- Prije stavljanja na tržište, obrađeni materijal mora biti u skladu sa standardima kompatibilnih testova.

Antimikrobna se sredstva mogu svrstati u nekoliko kategorija: biocidi, biostati, sintetski i prirodni spojevi, spojevi dobre i slabe otpornosti na pranje, spojevi kontrolliranog otpuštanja, spojevi koji tvore granicu te antimikrobna sredstva koja uzrokuju istjecanje. Antimirkobna sredstva mogu imati biocidalni i biostatski učinak na rast mikroorganizama. Biocidi (baktericidi i fungicidi) uzrokuju smrt mikroorganizama, a biostati (bakteriostati i fungistati) inhibiraju rast mikroorganizama. Mehanizam djelovanja uvelike ovisi o koncentraciji aktivnih tvari u tekstilu (slika 7.) [26].



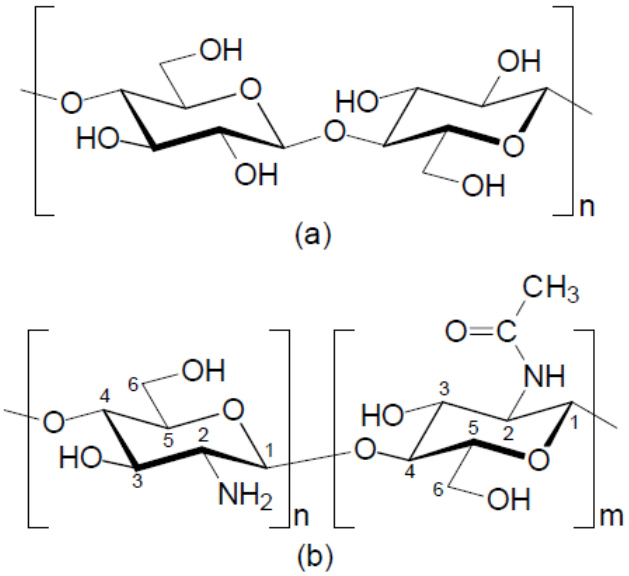
Slika 7. Biocidni/biostatski učinak antibakterijskih sredstava na rast mikroorganizama [26]

Kao antimikrobna sredstva, koriste se različiti organski spojevi (amini, kvaterni amonijevi spojevi, biguanidi), mineralni spojevi (metalni ioni, oksidi, fotokatalizatori), organometlani spojevi te prirodni spojevi (hitin, hitozan) [25]. S obzirom da je većina navedenih sredstava toksična te se teško razgrađuje, teži se primjeni prirodnih sredstava, kao što je hitozan [26].

3.1. Primjena hitozana kao antimikrobnog sredstva

Hitozan je polisahard pripravljen deacetiliranjem hitina, koji je glavni konstituent egzoskeletona ljuskara, algi, insekata i sličnih organizama [27]. Glavna prednost ovog polimera leži u tome što je veoma rasprostranjen u prirodi, netoksičan je, biorazgradljiv te biokompatibilan s ljudskim organizmom. Ima svojstvo regeneracije koja se može poboljšati umjetnim uzgojem [28].

Primarna jedinica je 2-amino-2-deoksi-D-glukoza međusobno povezana β-(1-4)-glukozidnom vezom (slika 8.). Otapa se u razrjeđenim organskim kiselinama pri pH < 6,5 dajući viskozne otopine. U protoniranom obliku posjeduje veliku gustoću elektronskog naboja koja mu omogućuje reakcije sa negativno nabijenim mikroorganizmima, što pogoduje njegovoj upotrebi u medicini, farmaciji, prehrambenoj, tekstilnoj industriji, industriji pročišćavanja voda i drugdje [29].



Slika 8. Strukture (a) celuloze te (b) hitina i hitozana [30]

Antimikrobna učinkovitost hitozana ovisi o vrsti (običan ili derivat), molekulnoj masi te stupnju deacetiliranja molekule. Mehanizam djelovanja hitozana uključuje elektrostatske interakcije između polikationske makromolekule hitozana i negativno nabijene stanične stijenke mikroba. Ovom reakcijom dolazi do destabilizacije i prekida dinamičke ravnoteže stanične stijenke, a naposlijetku i do istjecanja staničnih tvari [31].

Različita fizikalna stanja i molekulne mase također imaju utjecaj na mehanizam djelovanja hitozana. Na primjer, nisko molekulni vodotopivi hitozan i ultrafine nanočestice hitozana često prodiru unutar stanične stijenke bakterije. Jednom kada su unutar stanice, zajedno sa bakterijskom DNA inhibiraju sintezu mRNA i transkripciju DNA. S druge strane, visokomolekularni vodotopivi hitozan i veće nanočestice hitozana reagiraju sa površinom stanice i mijenjaju svojstva propusnosti membrane. Ovime mogu rezultirati u stvaranju nepropusnog sloja oko stanice sprečavajući transport esencijalnih tvari unutar stanice [31].

Hitozan ima dobro poznata i jedinstvena antimikrobna svojstva zahvaljujući polikationskoj prirodi. Mehanizam inhibicije mikroba hitozana nije dobro poznat, no smatra se da pozitivno nabijeni hitozan u dodiru sa negativno nabijenom staničnom stijenkom bakterije dovodi do promjene propusnosti stanice urokujući istjecanje unutarstaničnih tvari. Kao rezultat, hitozan inhibira metabolizam mikroorganizama te dovodi do njihove smrti [30].

Istraživanja su pokazala da se antimikrobna aktivnost, u pravilu, povećava s povećanjem stupnja deacetiliranja, a veći stupanj deacetiliranja znači i veći broj amino skupina u hitozanu. Kao rezultat, hitozan ima povećani broj protoniranih amino skupina u kiselom mediju te se

otapa u vodi, što dovodi do povećane mogućnosti za interakciju između hitozana i negativno nabijene stanične stijenke mikroorganizama [30].

Pri niskim pH vrijednostima većina amino skupina na C-2 položaju glukozaminske jedinice je protonirana te ta kationska gustoća naboja omogućuje reakciju s anionskom površinom gram-negativnih bakterija te s anionskim peptidoglikanima gram-pozitivnih bakterija. Stupanj acetiliranja i pH određuju gustoću naboja tj. područje u kojem je hitozan pozitivno nabijen te s time povezanu antibakterijsku aktivnost. Snižavanje pH povećava antimikrobnu aktivnost hitozana zbog većeg udjela nabijenih amino skupina [32].

4.Koža - jedinstveni biološki materijal

4.1. Općenito o koži

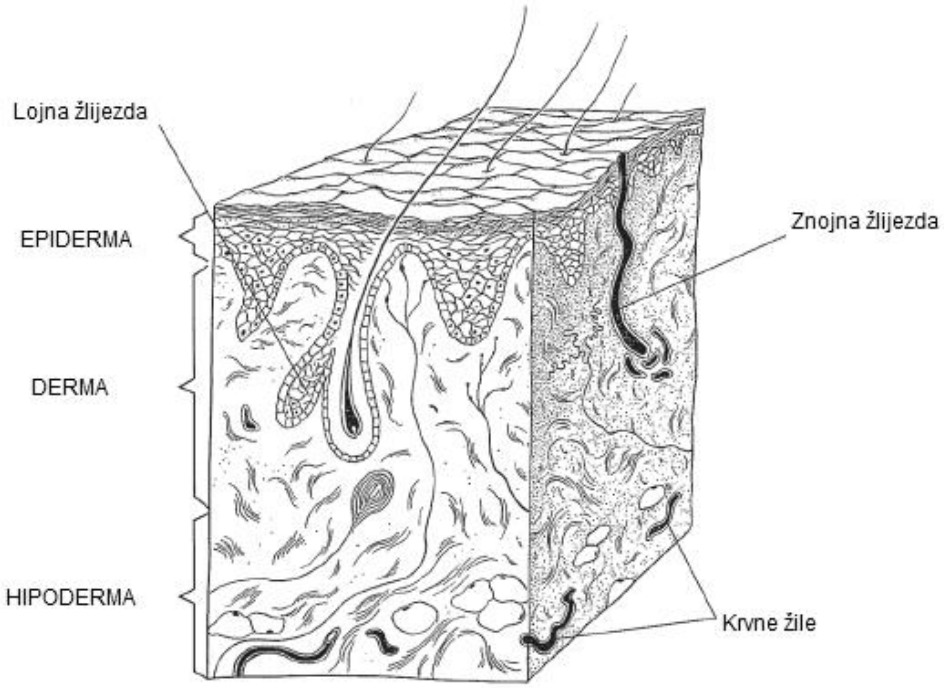
Gotova koža je proizvod koji nastaje obradom sirove životinjske kože u procesu štavljenja tijekom kojeg ona postaje trajnija i podatnija te se takva može primjenjivati u različite svrhe. Izrada kože jedan je od najstarijih ljudskih zanata prisutan u povijesti više od 3000 godina [33]. Ljudi su kožu ubijenih životinja koristili za zaštitu tijela od vremenskih nepogoda i ozljeda, a postepeno i u druge svrhe, kao što su izrada čamaca, šatora i ostalih proizvoda [34]. Koža je od fundamentalne važnosti za životinju jer ima različite fiziološke funkcije od kojih su najvažnije regulacija tjelesne temperature, skladištenje hranjivih tvari, zaštita i izlučivanje otpadnih produkata [35]. Vodootporni sloj kože djeluje kao barijera protiv različitih infekcija, sprječava apsorpciju vode izvana te gubitak vode iznutra. Životinjska koža se sastoji od tri glavna sloja: epiderme, derme i hipoderme, no za primjenu je od važnosti derma, dok se preostala dva sloja u procesima prerade uklanjaju [35, 36].

4.2. Građa kože

Koža sisavaca ima višestruke funkcije kao što su regulacija tjelesne temperature, zaštita od vanjskih uvjeta te eliminacija otpadnih tvari. Ona zadovoljava navedene uvjete zbog toga što se sastoji od različitih tkiva, od kojih su glavna sljedeća [33]:

- vezno tkivo koje drži ostala tkiva i omogućuje koheziju,
- živčano tkivo koje reagira na vanjske podražaje,
- mišićno tkivo koje utječe na tjelesne pokrete,
- žljezdano tkivo koje uklanja otpadne tvari te izlučuje esencijalne tvari,
- masno tkivo koje stvara i skladišti lipide te
- epidermalno tkivo koje omogućuje zaštitu.

Koža je jedinstveni bio materijal građen od trodimenzijske fibrilarne teksture [24]. Kompleksne je strukture, a u osnovi se razlikuju tri sloja: *vanjski sloj* (pokožica, epiderma), *srednji* (usmina, derma) te *unutrašnji sloj* (potkožno tkivo, hipoderma) (slika 9.) [34].



Slika 9. Presjek kože [36]

Epiderma (pokožica) je tanki površinski sloj kože građen od četiri tipa stanica, a 90% njih čine keratinociti koji proizvode protein keratin [36]. Njegovim razvojem odumrle stanice idu prema površini epiderme te nadomještaju stanice koje su se istrošile trenjem. Kod kratkodlakih životinja epiderma je deblja, dok je kod dugodlakih tanja. Tijekom pripremnih radova epiderma se uklanja zajedno sa dlakama i ostalim suvišnim dijelovima sirovih koža, nakon čega ostaju pore na površini kože koje zajedno s ostalim nepravilnostima tvore lice kože specifično za svaku životinjsku vrstu [34].

Ispod epiderme se nalazi deblji sloj koji se naziva *derma* (usmina*)*, a sastoji se od vezivnog tkiva s mnogo isprepletenih kolagenskih, elastinskih i argirofilnih vlakana, te je ujedno i najvažniji sloj sirove kože koji se upotrebljava za dobivanje gotovog proizvoda [37]. Građena je od čvrstog, vezivnog tkiva izgrađenog iz fibrilarnih (vlaknastih) sklero proteina, pretežno *kolagena*. Kolagenska vlakna građena su od *fibrila* – elementarnih vlakana paralelno smještenih, lagano savijenih i međusobno povezanih (bez slobodnih krajeva), te doprinose različitoj debljini kolagenskih vlakana [38]. Zbog takve građe prirodna koža ima odlična mehanička svojstva, tako da se na oštećenim mjestima dalje ne trga, pod utjecajem vanjskih sila naprije dolazi do popuštanja i istezanja, a zatim struktura pruža otpor vanjskom

opterećenju [34]. Koža se razdvaja u dva sloja - papilarnog, gornjeg sloja sastavljenog od tanjih kolagenskih vlakana i retikularnog, sastavljenog od debljih snopova kolagenskih vlakana. Koža je prirodno sastoji od više slojeva te predstavlja heterogeni nano-fibrilni sustav [39].

Derma sadrži *papilarni i retikularni* sloj [40, 41]. Folikule dlake, žlijezde lojnice i žlijezde znojnice se nalaze između ta dva sloja. Papile, koje prijanjaju na epidermu, imaju zbijeni raspored vlakana koja tvore lice kože, a građene su iz kolagenskih i elastinskih vlakana [35, 40]. Ostale komponente kože nisu korisne, te se uklanjaju u procesima pripremnih radova [40]. U papilarnom su sloju vlakna tanja te omogućuju nutrijente epidermi i učvršćuju epidermu za sloj derme [36].

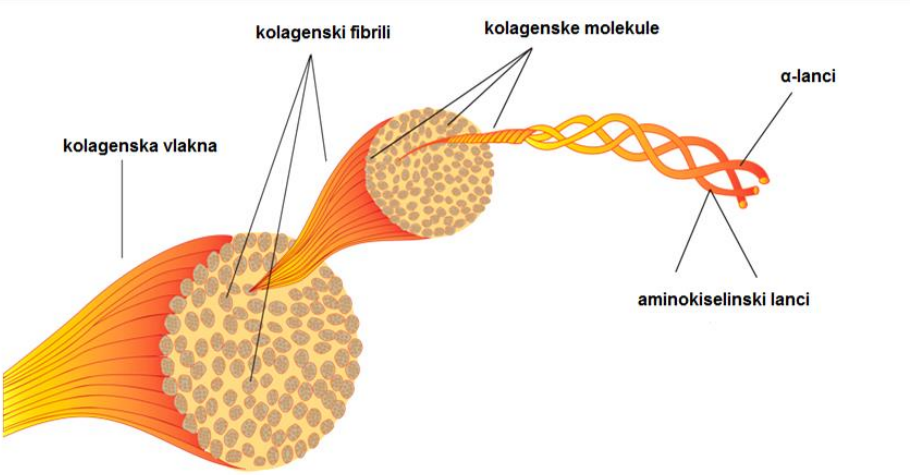
Retikularni sloj je kompleksniji i metabolički aktivniji sloj koji se sastoji od gustih snopova kolagenskih vlakana, isprepletenih u kompleksnu trodimenzionalnu mrežu, te se nalazi ispod papilarnog sloja [24, 36]. Stanice i strukture u ovom području stvaraju sebum, dlake, nokte i znoj. Prijanja za potkožno tkivo koje se nalazi ispod derme iizgrađuju ga kolagenska vlakna [35,36].

Hipoderma kao treći sloj ima ulogu povezivanja kože i tijela životinje, te obuhvaća masne stanice i mišićno tkivo [37]. Često se naziva i mesnati sloj ili mesina te se u pripremnim procesima prerade kože uklanja [35]. Labavost mesine olakšava njegovo uklanjanje tijekom pripremnih procesa strojnom obradom [41].

4.2.1. Kemijska građa kože

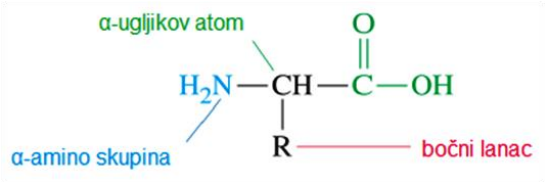
Kao i većina biloških materijala, kože sadrže 65 - 70% vode, 30 - 35% suhe tvari te <1% pepela. Glavne komponente kože su *proteini* - kolagen, keratin, elastin i retikulin koji čine oko 33% sastava kože. Kolagen, kao glavna komponenta kože, je odgovoran za čvrstoću i žilavost sirovih i gotovih koža. Keratin je jedinstveni protein koji se nalazi u dlaci te je drugi najčešći protein u koži. Elastin se nalazi u papilarnom sloju te se uklanja tijekom prerade kože. U retikularnom su sloju, uz kolagen, prisutni i proteoglikani, hijaluronska kiselina, te manje količine ugljikohidrata. Lipidi su prisutni i u papilarnom i retikularnom sloju, a koncentracija ovisi o porijeklu kože (npr. goveđa koža sadrži 2 - 6% lipida) [40, 41].

Kolagen je primarni gradbeni protein kože. Kolagensko vlakno se sastoji od 30 do 300 monofilamenata izgrađenih od 200 do 1000 fibrila. Svaki fibril sadrži 700 - 800 molekula kolagena. Molekula kolagena sadrži 3 peptidna lanca koji su međusobno uvijena tako da tvore trostruku uzvojnicu (slika 10.) [40].



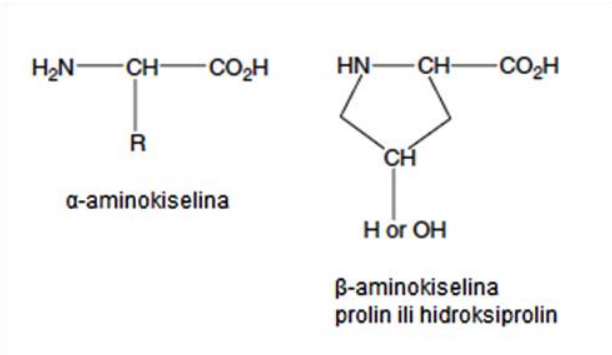
Slika 10. Prikaz građe kolagenskog vlakna [42]

Kolagen se sastoji od različitih strukturnih slojeva, koji se još naziva i hijerarhijom strukture kolagena [43]. Primarnu strukturu kolagena čini slijed aminokiselina. Aminokiseline su spojevi koji sadrže krajnju amino skupinu i krajnju karboksilnu skupinu, te bočni lanac vezan na metilensku skupinu u središtu molekule (R) [9]. Naziv se najčešće odnosi na α - aminokarboksilnu skupinu (slika 11.). Najjednostavnija α-aminokiselina je glicin [44].



Slika 11. Shematski prikaz α-aminokiseline [44]

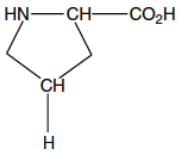
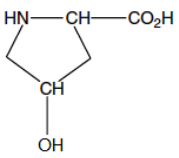
Aminokiseline se dijele na α-aminokiseline i β-aminokiseline (slika 12.). One imaju višestruku ulogu i sudjeluju u stvaranju fibrilne strukture ili u reakcijama modifikacija proteina.



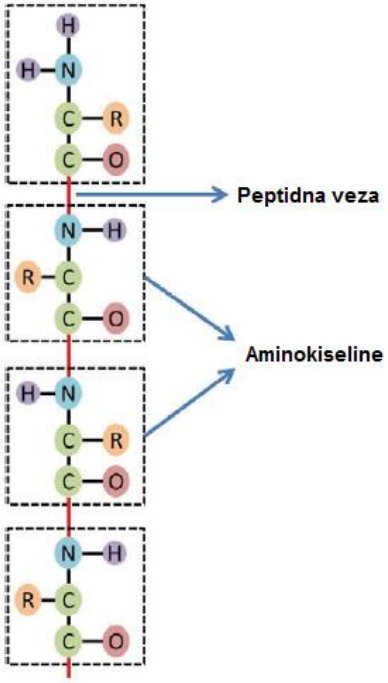
Slika 12. Strukture aminokiselina [43]

Kada se aminokiseline povežu zajedno, one stvaraju 'os' za polimer iz kojeg se protežu bočni lanci. Sadržaj i razdioba bočnih lanaca određuju većinu svojstava proteina. U slučaju proteina kolagena, bočni lanci određuju njegovu reaktivnost, te sposobnost modificiranja kože u procesu štavljenja [43]. Kod proizvodnje kože, neke aminokiseline su važnije u procesima prerade te su prikazane u tablici 2.

Tablica 2. Prikaz aminokiselina koji imaju važnost u proizvodnji kože [43]

Naziv	Simbol	Tip aminokiseline	Bočni lanac	Važnost u preradi kože
glicin	Gly	α, neutralna	–H	struktura kolagena
alanin	Ala	α, neutralna	$–CH_3$	hidrofobno vezivanje
valin	Val	α, neutralna	$–CH(CH_3)_2$	hidrofobno vezivanje
leucin	Leu	α, neutralna	$–CH_2CH(CH_3)_2$	hidrofobno vezivanje
izoleucin	Ileu	α, neutralna	$CH_3CH_2CH(CH_3)$	hidrofobno vezivanje
Fenil-alanin	Phe	α, neutralna	$–CH_2C_6H_5$	hidrofobno vezivanje
serin	Ser	α, neutralna	$–CH_2OH$	uklanjanje dlaka
cistein	CySH	α, neutralna, sadrži sumpor	$–CH_2SH$	uklanjanje dlaka
cistin	Cys-SCy	α, neutralna, sadrži sumpor	$–CH_2SSCH_2–$	uklanjanje dlaka
asparaginska kiselina	Asp	α, kisela	$–CH_2CO_2H$	izoelektrična točka, mineralno štavljenje
aspargin	Asn	α, neutralna	$–CH_2CONH_2$	izoelektrična točka
glutaminska kiselina	Glu	α, kisela	$(CH_2)_2CO_2H$	izoelektrična točka, mineralno štavljenje
glutamin	Gln	α, neutralna	$–(CH_2)_2CONH_2$	izoelektrična točka
arginin	Arg	α, bazična	$(CH_2)_3NHC(NH)NH_2$	izoelektrična točka
lizin	Lys	α, bazična	$–(CH_2)_4NH_2$	izoelektrična točka, aldehidno štavljenje, bojenje
histidin	His	α, bazična	$–CH_2$-CH=CH-NH, N=CH	aldehidno štavljenje, bojenje, mašćenje
prolin	Pro	β, neutralna		struktura kolagena
hidroksiprolin	Hypro	β, neutralna		struktura kolagena, vezivanje vodikom

Aminokiseline su povezane kovalentnom peptidnom vezom između karboksilne skupine jedne aminokiseline i amino skupine pridružene aminokiseline [45]. Pri višim strukturnim razinama, tri polipeptida tvore trostruku zavojnicu oko osi, a glicin zauzima svaku treću poziciju zbog steričkih smetnji od bliskog pakiranja tri polipeptidna lanca. Ovakav način pakiranja čini karakterističan oblik kolagena: ponavljajući triplet aminokiselina -$(Gly\text{-}X\text{-}Y)_n$- gdje je svaki polipeptidni lanac povezan kovalentnom peptidnom vezom. Kolagen karakterizira ponavljajući slijed lanca $(Gly – X – Y)_n$, gdje je Gly glicin, a X i Y različite aminokiseline, uz *n* kao broj ponavljanja (uobičajeno 100 – 400) [46, 47]. Jedna trećina aminokiselinskih ostataka kolagena čini glicin, X označava prolin, a Y je često hidroksiprolin [43, 45]. Raspored aminokiselina u molekuli kolagena je pravilan, a prostorni oblik, te prstenasta struktura prolina i hidroksiprolina uvijaju lanac u spiralnu uzvojnicu, s lijevo-orijentiranom uzvojnicom koji sadrži tri aminokiseline po uvoju s glicinom koji zauzima svaki treći položaj uzduž lanca [45, 48].
Na ovaj način se brojne aminokiseline povezuju i tvore dugačak lanac, okosnicu proteina (slika 13.). Svi su proteini u osnovi isti, ali se razlikuju u slijedu aminokiselina duž proteinskog lanca. Kolagen se sastoji od oko 20 različitih aminokiselina koje zajedno povezane čine oko 1000 jedinica [45].

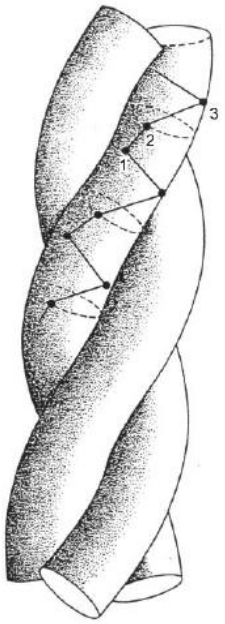


Slika13. Slijed aminokiselina u polipeptidu čini primarnu strukturu kolagena [36]

Tercijarna struktura se naziva *trostruka uzvojnica* ili *tropokolagen*. Za identificiranje svake molekule kolagena koristi se naziv α-lanac te su lanci s različitim primarnim strukturama označeni brojevima, npr. α1, α2, ... [36]. Svaka fibrilarna molekula kolagena sastoji se od tri polipeptidna lanca, koji se nazivaju α-lanci. Molekule mogu biti homotrimerne, što znači da se

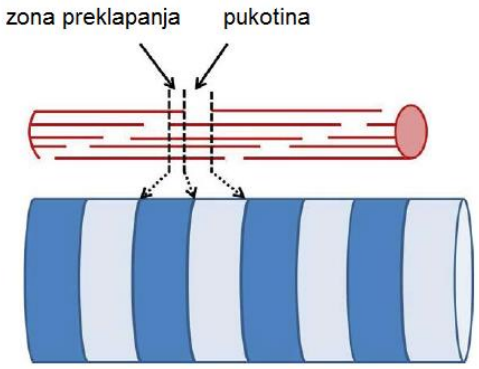
sastoje od tri ista α-lanca, kao u kolagenima tipa II i III ili heterotipske, koje sadrže do tri genetski različita α-lanca. Individualni α-lanci se označavaju na sljedeći način: α*n*(N), gdje je N rimski broj koji označava tip kolagena, a *n* je broj α-lanaca. Tako je lančana kompozicija kolagena tipa II $[\alpha1(II)]_3$, a kolagena tipa I, heterotrimera sa dva identična α1 lanca te trećim različitim α2 lancem $[\alpha1(I)]_2\alpha2(I)$.

Poprečne veze stabiliziraju oblik trostruke zavojnice i mogu biti intramolekularne, povezujući dva α-lanca unutar iste molekule ili intermolekularne, kovalentne veze između lanaca u različitim molekulama. Prisutstvo visokog udjela β-aminokiselina uzrokuje zakretanje aminokiselinskog lanca zbog fiksiranih tetraedalnih kuteva koji zatvaraju strukturu u mjestu, a takva struktura se naziva *α-uzvojnica* (slika 14.) [36, 43, 49].



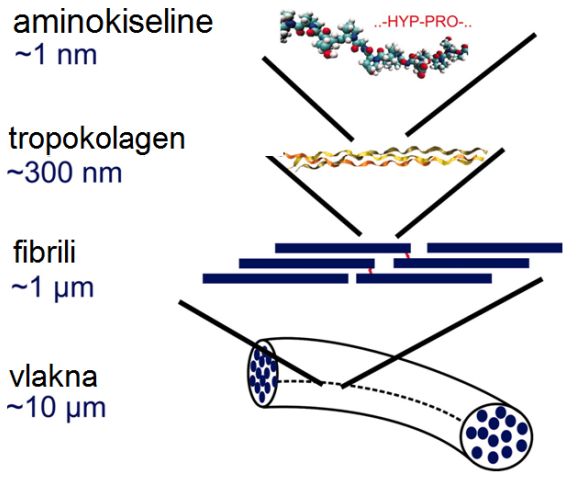
Slika 14. Prikaz trostruke α-uzvojnice u molekuli kolagena [43]

Kvaterna struktura odgovara međusobnom rasporedu tropokolagena. Niz od pet raspoređenih tropoklagena tvori kvaternu strukturu kolagena. Njihov raspored stvara preklapanja susjednih trostrukih α-uzvojnica i pukotine između jedne trostruke α-uzvojnice i nastavka trostruke α-uzvojnice koji su odgovorni za vezivanje kolagena (slika 15.) [36]



Slika 15. Udruživanje tropokolagena u fibrile kolagena [36]

Fibrili kolagena tvore kompleksnu mrežu, a njihov raspored predstavlja važan doprinos u čvrstoći kolagenskih struktura [36]. Mikrofibrili se udružuju u paralelne položaje te putem umrežavanja tvore kolagenske fibrile. U koži, kolagenski fibrili se ne razlikuju mnogo u promjeru te tvore slučajnu mrežastu strukturu [46 - 48]. Trostruke su α-uzvojnice povezane u snopove fibrila. Fibrili su najmanje jedinice strukture kolagena koje se mogu promatrati elektronskim mikroskopom. Fibrili su grupirani u snopove fibrila koji tvore kolagenska vlakna, a vlakna se udružuju u snopove kolagenskih vlakana [48]. Ovaj hijerarhijski dio kolagenskog vlakna je važan jer o njemu ovisi otvaranje strukture vlakana tijekom pripreme za proces štavljenja (slika 16.). Cijepanje strukture vlakana u ovoj fazi prerade važno je za postizanje konačne mekoće i čvrstoće gotove kože [43].



Slika 16. Hijerarhija strukture kolagenskih vlakana [50]

Proteinske makromolekule sadrže različite tipove kolagena koji imaju razilčitu kemijsku i geometrijsku strukturu. Koža sadrži 7 različitih tipova kolagena od poznatih 20. Tipovi I, III, IV i V pripadaju u glavne tipove kolagena. Razlikuju se u primarnoj strukturi, utvrđenoj redoslijedom aminokiselinskih ostataka u polipeptidnim lancima. Tipovi kolagena I i III su

međusobno kovalentno povezani. Kolagenske fibrile tipa I, III i V karakterizira umreženo povezivanje. Kolagen tipa IV nastaje u trostrukoj zavojnici i ima dužinu 400 nm, nalazi se u sloju epiderme gdje tvori umreženu strukturu [51]. Mnogi su kolageni, posebno tipovi I, III i IV, otporni na proces predobrade vapnom (vapnjivanje), nagrizanje te rasoljavanje. Kolagenski fibrili imaju veliku čvrstoću, pri čemu je uređenost strukture kolagenskih fibrila važna za konačna fizikalna svojstva kože [46, 47].

4.2.2. Morfološka građa kože

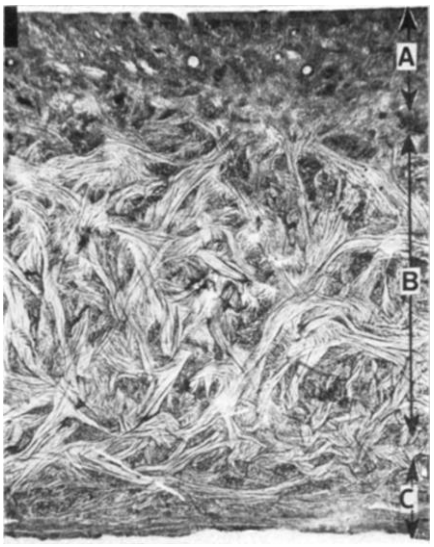
Kao što je već spomenuto, kože sisavaca su građene od guste, isprepletene vlaknaste podloge u sredini (derma, uključujući papilarni i retikularni sloj), tankog staničnog vanjskog sloja (epiderma) s dlakama te masnog, unutrašnjeg (potkožnog) sloja vezanog na mišiće (sl.17.).



Slika 17. Poprečni presjek goveđe kože podijeljen na 4 glavna sloja: epiderma, derma, koja se dijeli na papilarni i retikularni sloj i potkožni sloj [41]

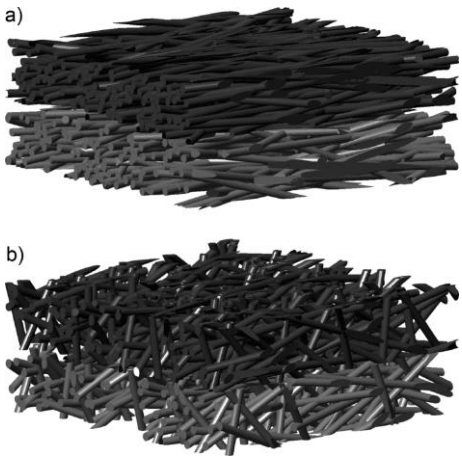
Na granici između derme i epiderme nalazi se gruba bazalna membrana koja nakon odvajanja epiderme postaje papilarna površina kože. Papilarni sloj sadrži mrežu malih krvnih žila i kapilara te uključuje i folikule dlaka. Između ovih staničnih komponenata nalazi se isprepletena trodimenzionalna podloga tankih kolagenih vlakana. Među ovim vlaknima nalaze se tanka,

elastična vezivna vlakna koja su usmjerena uglavnom paralelno prema površini [41]. Ovaj sloj se proteže od korijena dlaka sve do vanjske površine, odn. epiderme. Kolagenska vlakna postaju tanja s prolaskom kroz papilarni sloj. Prema površini mesnatog dijela, vlakna imaju tendenciju kretanja u horizontalnoj ravnini tvoreći granični ili mesnati sloj (sl. 18.) [52]. Retikularni sloj kože je jednostavnije građe u kojemu su snopovi kolagenskih vlakana znatno duži te se isprepliću pod višim kutevima u odnosu na površinu kože. Ovi snopovi vlakana su isprepleteni u slučajni, trodimenzionalni uzorak (B na sl. 18.) [41, 52].



Slika 18. Vertikalni presjek goveđe kože; a) papilarni sloj b) retikularni sloj c) mesnati sloj [52]

Čvrstoća i istezljivost kože ovise o kolagenskim vlaknima u ovom sloju, posebno o njihovoj orijentaciji. Jedinstveno svojstvo kože očituje se u tome da je čvrstoća kože određena orijentacijom fibrila – čvršća koža ima fibrile uglavnom paralelne s ravninom površine kože te niski kut ispreplitanja, dok slabija koža ima veći kut ispreplitanja te fibrile koji nisu u tolikoj mjeri paralelni s ravninom (slika 19.) [41, 47].



Slika 19. Prikaz orijentacije vlakana u a) čvršćoj i b) slabijoj koži; u čvršćoj koži kut ispreplitanja je manji; vlakna su više sadržana u ravninama paralelnim s površinom kože [47]

Molekule kolagena su znatno duže u odnosu na poprečni presjek te su prirodno orijentirane tijekom njihovog nastanka u vlakna i dalje u snopove vlakana. Snopovi vlakana variraju u dimenzijama pri različitim razinama u koži. Prirodno uvijanje kolagenskih snopova vlakana varira s debljinom kože, kao i s obzirom na dio životinje na kojoj se nalazi (i s koje se skida u procesu prerade). Primjerice, koža koja se nalazila na leđnom dijelu životinje je kompaktnije strukture i isprepletena je s vlaknima koja se isprepliću pri višim kutevima u odnosu na papilarni sloj na trbušnom dijelu [52].

Izgled kože različitih životinja bitno se razlikuju u gustoći, dimenzijama snopova vlakana u retikularnom sloju te omjeru ukupne debljine u papilarnom (granuliranom) sloju (licu). Kože odraslih goveda su debljine 4 do 6 mm, od čega 1/6 ukupne debljine čini papilarni sloj. Dlake su ravne, relativno grube, te su razmaknute na jednakim udaljenostima duž sloja. Snopovi vlakana u retikularnom sloju kože su relativno dugi te se isprepliću pod velikim kutom u odnosu na površinu (slika 20.). Ovakva je koža prikladna za potplate, sedla, pojaseve, no poprilično je debela za izradu gornjišta obuće. Koža mladog goveda, iako samo 1 mm debljine, je izrazito čvrsta zbog gusto isprepletenih snopova vlakana, a ipak izrazito fine i glatke površine (lica). Ovako dobivena koža je idealna u izradi obuće, torbi, novčanika i sl. proizvoda. Kada se tijekom obrade uklone dlake s površine kože, na površini zaostaju vidljive folikule dlaka [45].



Slika 20. Presjek goveđe kože [33]

4.3. Procesi prerade kože

Sirove kože prolaze procese prerade te poprimaju nova fizikalna, kemijska i mehanička svojstva. Sa kože se uklanjaju suvišni dijelovi, kao što su pokožica, potkožno tkivo, dlake, prljavština, usmina se razrahli te se pripremi za proces štavljenja. Tako dobivena koža naziva se *golica* [34].

Procesi prerade kože mogu se podijeliti u tri faze [53]:

- pripremni procesi,
- štavljenje kože,
- dorada kože.

4.3.1. Pripremni procesi

Glavni su pripremni radovi močenje i pranje, luženje (labavljenje korijena dlake i potom uklanjanje dlaka), skidanje mesine, čišćenje lica, obrezivanje i označivanje, vaganje, cijepanje, odvapnjivanje, nagrizanje, zakiseljavanje (piklanje, rasoljavanje) [34]. Cilj pripremnih procesa je pripremiti kožu za sljedeći proces štavljenja u kojemu se njena struktura stabilizira [53].

Svrha močenja je očistiti sirove kože od krvi, prljavština i mikroorganizama, zatim uklanjanje sredstava za konzerviranje i topljivih globularnih proteina (međuvlaknatih bjelančevina) kako bi im se nadomjestila izgubljena vlaga te kako bi se ponovnim primanjem vode vratile u stanje slično stanju svježe kože [34, 53]. Močenje se provodi u vodama srednje tvrdoće bez većih količina organskih tvari i mikroorganizama, na temperaturama 12-20 ºC iz razloga jer visoka temperatura može dovesti do oštećenja koža. Močenje se odvija pri pH 9 i 10 dodatkom natrijevog karbonata ili natrijevog sulfida prilikom čega dolazi do umjerenog bubrenja koža. Močenje se odvija kroz 6 do 24 h ovisno o veličini kože te stupnju sušenja sirove kože [34, 54].

Pri obradi kože potrebno je olabaviti i ukloniti pokožicu s dlakama te razrahliti dermu, kako bi se postigla željena svojstva gotovih koža. Procesi labavljenja dlaka koje se danas provode su potparivanje, enzimatsko labavljenje i premazivanje. Kože se natapaju u alkalnoj i sulfidnoj otopini koja olabavljuje korijen dlaka pri čemu dolazi do zbog redukcije cistinskih (S-S) veza u keratinu kako bi olakšali fazu uklanjanja dlaka [34, 54].

Nakon luženja koža se ispire mekom vodom ili dodatkom kalcijevog hidroksida koje se provodi odmah, bez odležavanja na zraku. Vapno se koristi kao pufer koji održava pH 13 te uzrokuje bubrenje kože, otvaranje mreže kolagenskih vlakana i uklanjanje nestrukturiranih proteina [34, 35]. Vapno razara i otapa keratin u dlakama. Vapno ili alkalije kidaju vodikove veze između fibrila, što rezultira otvaranjem strukture, čime ih čine dostupnijima za nove kisele i alkalne skupine i nove kemijske reakcije [36]. Dlake koje su olabavljene s pokožicom se potom uklanjaju mehaničkim operacijama na strojevima za uklanjanje dlaka, kao što je rotirajući valjak uz pomoć tupih spiralnih noževa. Tijekom rada valjak s noževima se polijeva vodom koja ispire dlake, kao i golicu [34]. Skidanje mesine provodi se mehaničkim putem prilikom čega se s kože uklanja potkožni sloj s ostacima mišićnog i masnog tkiva. Strojevi na kojima se provodi ovaj postupak su slični strojevima za uklanjanje dlaka, samo što su noževi oštriji [34].

Postupak čišćenja lica se provodi kako bi se uklonili ostaci pokožice i dlačnih korijena, pigmenti oslobođeni u procesu luženja, neotopljene bjelančevine te ostale nečistoće. Ovim postupkom se dobiva glađe i elastičnije lice koža i omogućuje jednolično štavljenje i bojenje. Proces čišćenja se može provoditi ručno na kožarskom panju ili u pomoć strojeva [34].

Obrezivanjem koža čiste se rubovi od ostataka mesine zaostale nakon strojne obrade te koža dobiva poželjan oblik. Kože se potom označavaju i važu. Cijepanjem koža kroz presjek, na strojevima za cijepanje, odvaja se dio kože s licem ujednačene debljine, a dio kože bez lica na koji se prenosi neujednačenost debljine naziva se *cjepanik*. Postupak se provodi na debljim kožama te se tako dobivene mogu lakše prerađivati u daljnjim procesima zbog jednolične debljine i otvorenijih vlakana [34].

Odmašćivanje se provodi na izrazito masnim golicama kako bi se olakšalo kasnije vezivanje štavila, bojila i apretura. Odmašćivanje se može provoditi vodenim otopinama emulgatora te tiještenjem golica zagrijanih na 40°C pod tlakom u hidrauličkim prešama pri čemu iz golica istječu voda i masnoće [34].

Odvapnjivanjem ili neutralizacijom sa golice se uklanjaju kalcijev hidroksid i sulfidi te proizvodi razgradnje i međuvlaknate tvari. Tijekom ovog procesa nabubrena struktura kolagena se dramatično otvara te se iz nje uklanjaju neželjene tvari. Cilj odvapnjivanja je otapanje ostataka vapna te smanjenje bubrivosti strukture snižavanjem vrijednosti do pH 8,5 – 9,0. Odvapnjivanje se provodi s amonijevim solima, kloridima ili sulfatima, koja imaju efekt pufera te brzo prodiru u unutrašnjost kože. Ovim postupkom se uklanja 40-70% sadržanog vapna [34, 54].

Nagrizanje je enzimski postupak uklanjanja neželjenih komponenata kože. Uklanjaju se epiderma, dlake te produkti razgradnje proteina [36]. Ovim postupkom se poboljšavaju mekoća, istezljivost, plastičnost te poroznost gotove kože, lice postaje glađe i finije, smanjuju se nabori na koži te se poboljšava vezanje štavila na kožu. Nagrizanje se provodi korištenjem enzima, najčešće proteaza, koji kataliziraju hidrolizu nestrukturiranih proteina. Tijekom ovog procesa pH treba biti između 8,0 – 9,0, a temperatura oko 37 °C. Proces je završen kada je sniženjem vrijednosti pH i temperature postigne željeno mekšanje kože [54].

Piklovanje ili rasoljavanje je postupak zakiseljavanja golice otopinama kiselina i neutralnih soli kako bi se pripremile za kromno štavljenje i neutraliziralo zaostalo vapno [34]. Proces se vodi u pH području 2,8 – 3,5. Niže vrijednosti pH su značajne kako bi zaštitila koža od truljenja. Jednom kada su soli otopljene, dodaju se razrijeđena mravlja kiselina, a zatim razrijeđena sumporna kiselina. Temperatura kupelji se održava na 20 °C kako bi se spriječila kisela hidroliza kolagena [54].

4.3.2. Štavljenje kože

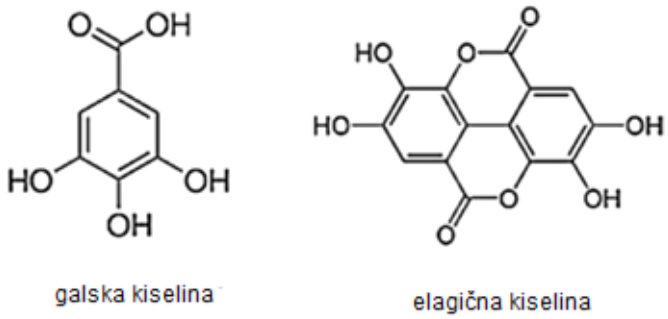
Jedna od najvažnijih operacija tijekom procesa prerade kože je proces štavljenja, koji poboljšava trajnost kože te sprječava njeno truljenje. Sredstva koja se koriste nazivaju se štavila i reagiraju s molekulom kolagena stabilizirajući trostruku spiralnu strukturu jezgre kolagena, čime se postiže otpor kože prema kemijskoj, toplinskoj i mikrobiološkoj razgradnji [55].

Uobičajeno je da se kao štavila koriste anorganski spojevi kao što su krom, aluminij, željezo, titan te organski spojevi kao što su aldehidi te vegetabilni tanini, sintani i kombinacije navedenih spojeva [55]. Štavila trebaju imati afinitet i sposobnost reakcije s kolagenom te imati određenu veličinu radi prodiranja u kolagenska vlakna čime se postiže željeno umrežavanje strukture [51].

Može se zaključiti da procesom štavljenja dolazi do učvršćivanja kolagenskih vlakana te cjelokupnog tkiva usmine ireverzibilnim vezanjem sredstva za štavljenje na polipeptidne lance između kolagenskih fibrila čime se umrežava vlaknasta struktura kože [34].

4.3.2.1. Štavljenje biljnim štavilima

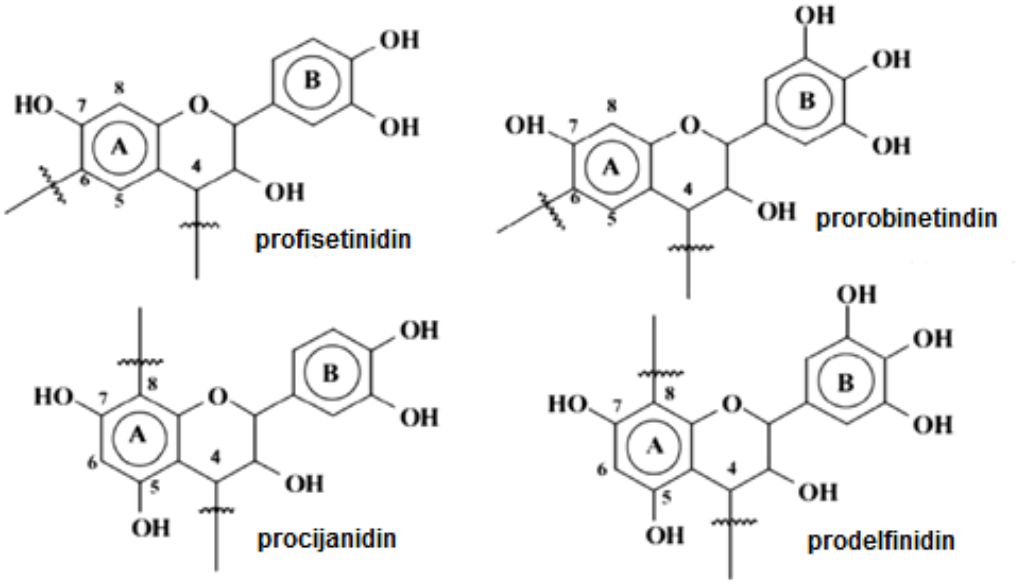
Biljke sadrže polifenole koji se koriste za proces štavljenja. Takva se štavila nazivaju tanini, a da bi bili učinkoviti, njihova molekularna masa mora biti između 500 i 3000. Njihova štavna moć ovisi o sadržaju fenolnih oksi-skupina jer umrežavaju kolagenska vlakna tako da se povezuju s njegovim amino-skupinama pomoću vodikovih veza. Tanini se nalaze u gotovo svim biljkama i u svim njihovim dijelovima, lišću, kori, plodovima, korijenju. Klasificiraju se u sljedeće skupine: hidrolizirajući ili pirogalolni te pirokatheinski ili kondenzirani [34, 45]. Hidrolizirani tanini su smjese jednostavnih fenola, kao što su elagična i galska kiselina (slika 21.) [56].



Slika 21. Prikaz hidrolizirajuće molekule tanina [56]

Ova vrsta tanina doprinosi intenzivnom obojenju, čistoći obojenja te otpornosti na svjetlost. Oni se ponašaju i kao antimikrobne i antivirusne tvari. Zbog prisutstva mnogobrojnih hidroksilnih skupina, visoko su reaktivni kao biljna štavila [45].

Kondenzirani tanini čine više od 90% svjetske proizvodnje tanina. Glavne ponavljajuće jedinice ove vrste tanina su katehin i epikatehin, prodelfinidi, profisetinidini i prorobinetidini (slika 22.) [56].



Slika 22. Glavne strukture kondenziranih tanina [56]

Kod kondenziranih tanina ne dolazi do hidrolize, već mogu stvarati talog koji se naziva flobafen. Ovi tanini uočljivo pocrvene kada su izloženi svjetlu, što se događa zbog njihove vezane prstenaste strukture, zbog koje podliježu oksidativnom umrežavanju. Kondenzirani tanini povećavaju temperaturu mežuranja kolagena na 80 – 85°C [45].

Svi tanini reagiraju svojim fenolnim skupinama sa amino skupinama kolagena stvaranjem vodikovih veza na peptidnim vezama kolagena. Poznato je da se polifenoli vežu za amino i karboksilne kiselinske skupine na bočnim lancima, ovisno o pH. Reakcija tanina s kolagenom rezultira stabilnijom strukturom kože [45, 56].

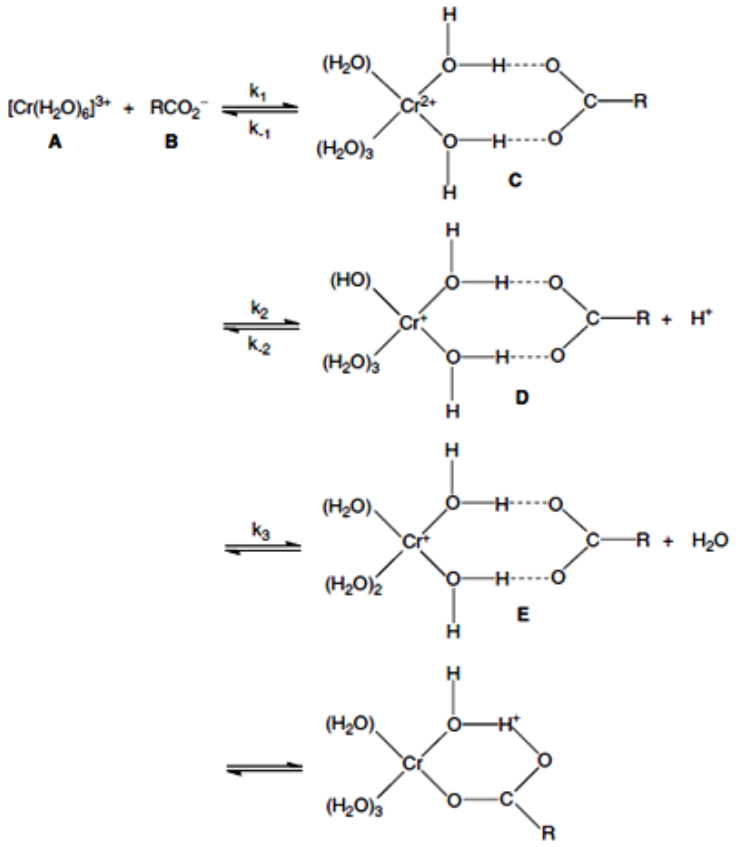
Tanini se dobivaju ektrakcijom iz različitih biljaka, a učinkovitost ekstrakcije ovisi o vrsti biljke te o tipu upotrijebljenog otapala ili aditiva dodanih u otapalo. Ekstrakcija se provodi uz pomoć vode kao otapala, a kod industrijske ekstrakcije se u vodu dodaju natrijev sulfit ili bisulfit te natrijev bikarbonat. Nakon toga otopina tanina se koncentrira i suši, pri čemu se dobije tanin u obliku praha [56]. Tanini se vežu za proteine kolagena te ih naslojavaju, čime oni postaju slabije vodotopivi te otporniji na bakterije. Kože također postaju elastičnije po završetku procesa [57].

4.3.2.2. Štavljenje mineralnim štavilima

Štavila iz ove skupine koja su najviše u upotrebi su kromna štavila, a ponekad se koriste i soli aluminija, cirkonija i titana [40]. Kromno štavljenje čini gotovo 80% svih postupaka štavljenja. Reakcija između kromnog štavila i molekule kolagena zbiva se na ioniziranim karboksilnim skupinama. Štavljenje se obično provodi u pH području 2,5 – 3,0 upotrebom krom(III)sulfata. Krom koji se koristi kod ove vrste štavljenja može biti u obliku krom(III), krom(IV) i krom(VI) spojeva. Najčešće se koristi trovalentni krom koji se pojavljuje u prirodi te je neophodan nutrijent za ljudski organizam [45,57].

Soli kroma(III) se priređuju iz spojeva kroma(VI), koji su komercijalno dobiveni iz kromne rude. Ruda se peče u rotacijskim pećima na 1200°C u prisutstvu lužine, te dolazi do nastanka dikromata. Acidifikacijom dikromat prelazi u kromnu kiselinu, a redukcijom kromne kiseline, kromata ili dikromata dolazi do nastanka kromne(III) soli [43].

U osnovi je kromno štavljenje stvaranje kovalentnih kompleksa između karbonilnih skupina kolagena, posebno ioniziranihh karbonilnih skupina, sa krom(III) molekularnim ionima (slika 23.) [43].



Slika 23. Reakcijski mehanizam kompleksiranja karboksilata sa kromom [43]

Kromno se štavljenje provodi/lo na dva načina:

- prvi postupak primjenom dvije kupelji provodi se obradom golice otopinom neštavnih šesterovalentnih kromnih soli, a koje se na kožnom tkivu reduciraju u štavne trovalentne bazne kromne soli. Ovako dobivene kože sadrže manje količine vezanih kromnih soli, svjetlije su boje, imaju finije lice punije su i boljih su fizikalnih svojstava. Nedostatak ovog postupka je njegova složenost te veliki gubitci kemikalija. Postupak u dvije kupelji je gotovo napušten i danas se rijetko primjenjuje.
- drugi postupak se provodi u jednoj kupelji gdje se golici dodaju štavne trovalentne bazne kromne soli koje su prethodno priređene iz neštavnih kromnih soli [34].

Nakon završenog štavljenja, kože imaju karakterističnu plavkastu boju nastalu zbog otopine kromnog štavila [57].

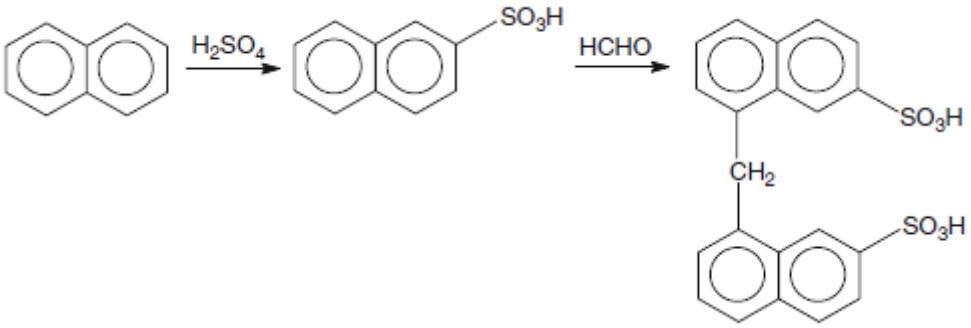
4.3.2.3. Štavljenje sintetskim štavilima

Sintetska štavila, *sintani* su razvijeni kako bi djelomično ili u potpunosti zamijenili vegetabilna štavila. Ovom metodom štavljenja koža dobiva mnoge prednosti kao što su dobra obojenost kože, otpornost na svjetlost, topivost te moć disperzije. U usporedbi s vegetabilno štavljenom kožom, kromno i sintetski štavljene kože su laganije, vlakna su tanja, koža je porozne strukture te sadrži manje vezanih štavila [58].

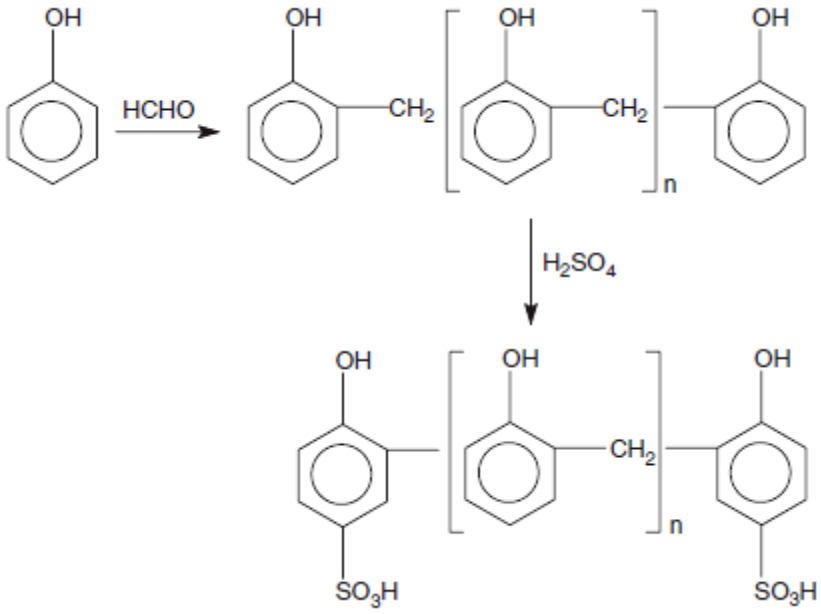
Sintetsko se štavljenje provodi štavilima koja se nazivaju *sintani*, a radi se o umjetnim organskim tvarima različitog kemijskog sastava i svojstava. Prema kemijskoj građi dijele se na aromatske, smolne i alifatske sintane [45].

Aromatski su spojevi dobiveni reakcijama kondenzacije s formaldehidom, te su uvođenjem sulfo-skupina prevedeni u vodotopivi oblik. Na ovaj način mogu se proizvesti sintani s izraženom sposobnošću štavljenja koji zamjenjuju biljna štavila, te sintani bez znatnog štavnog učinka koji stvaraju solne veze s polipeptidnim lancima [34].

Prema *Nerdolu i Novolaku*, postoje dva koraka u sintezi sintana: sulfoniranje i polimerizacija. Sulfoniranje može nastupiti prije polimerizacije, nakon čega je udio sulfonata visok, što znači da je i topivost u vodi viša. Kada sulfoniranje nastupa nakon polimerizacije, molekula je manje topiva u vodi, te je reaktivnija prema supstratu (slike 24. i 25.) [43].



Slika 24. Nerdolova sinteza sintana: sulfoniranje i polimerizacija [43]



Slika 25. Novolakova sinteza: polimerizacija i sulfoniranje [43]

S obzirom na njihova svojstva, sintani se klasificiraju u tri skupine: *pomoćni sintani, kombinirani sintani* te *zamjenski sintani* [43, 45].

Pomoćni sintani

Ovi spojevi su pretežno građeni iz naftalena te se sintetiziraju Nerdolovim postupkom tj. produkt je sulfoniran do visokog stupnja i zatim polimeriziran (slika 24.) [45]. Slabo su reaktivni te je njihova glavna funkcija pospješivanje ostalih reakcija. Prisutstvo sulfonatnih skupina znači da ovi spojevi mogu ulaziti u reakcije sa amino bočnim lancima kolagena pri pH < 6:

Kolagen---NH_3^+ --- ^-O_3S---Sintan

Ovi spojevi su slabo reaktivni stoga imaju ulogu u potpomaganju reakcija kao što su solubiliziranje sintana i tanina viših molekulnih masa kako bi omogućili jednoličniju površinsku

reakciju i penetriranje, raspršivanje bojila kako bi omogućili bolje fiksiranje tanina i njihovo obojenje [43, 45].

Kombinirani sintani

Baza ovih sintata su jednostavni fenolni spojevi koji se sintetiziraju Novolakovim postupkom (slika 25.) [43, 45]. Spojevi su kompleksniji naspram pomoćnih sintana, viših molekulnih masa te se mogu umrežavati u dvije dimenzije. Imaju povećanu sposobnost štavljenja, što znači da mogu doprinjeti hidrotermalnoj stabilnosti, a zbog veće molekulne mase imaju učinak punjenja strukture praznijih dijelova kože. Oni potpomažu vegetabilno štavljenje i bojenje tako što reagiraju sa kolagenom prije nanosa vegetabilnog štavila ili bojila čime smanjuju reaktivnost supstrata. Zbog toga što su relativno mali polimeri, mogu se koristiti nakon kromnog štavljenja kako bi modificirali svojstva kože [43, 45].

Zamjenski sintani

Zamjenski su sintani oni koji mogu zamijeniti vegetabilna štavila jer su njihova svojstva slična polifenolima koji se nalaze u taninima. Njima se postižu različiti učinci na koži, ali mogu imati svojstva koje imaju tanini, uključujući povećanje temperature skupljanja na 80 - 85°C, te mogu povećati postojanost na svjetlo, u usporedbi s taninima [43, 45].

4.3.3. Dorada koža

Dorada štavljene kože provodi se s ciljem zaštite lica kože, prikrivanja nedostataka i postizanja različitih željenih učinaka. Dorada uključuje procese kao što su apretiranje, pokrivno bojanje, lakiranje, tisak i ostalo. Ovim postupkom dobiva se koža koja je funkcionalna te estetski poželjna [59]. Prije procesa dorade koža se ispire kako bi se uklonile suvišne masnoće i nečistoće s njene površine, a nakon toga se suši. Zatim se kože mogu apretirati sa sredstvima za oplemenjivanje površina kako bi se postigla svojstva poput hidrofobnosti, ili poboljšanja obojenosti. Pokrivno bojenje kože se provodi korištenjem anorganskih ili organskih pigmenata, a nakon nanošenja bojila na površinu koža vezivna sredstva poslije sušenja stvaraju film učvršćen na kožnom tkivu. Lakiranjem se na lice kože nanosi sjajna opna zrcalnog izgleda, a provodi se na kromno štavljenim kožama zbog čega su takve kože manje istezljive [34].

Tijekom i nakon doradnih postupaka lica provode se mehaničke obrade koža (glačanje, prešanje, poliranje, mekšanje i dr.) zbog poboljšanja svojstava i davanja konačnog izgleda koži. Završetkom svih doradnih procesa dobije se proizvod koji se naziva *gotova koža*. Taj naziv se primjenjuje za kemijski i mehanički obrađenu usminu sirove kože kojoj je prirodni splet kolagenskih vlakana pod utjecajem štavila mrežasto učvršćen te ima svojstva koja ju čine prikladnom za upotrebu [34].

4.4. Ekološki aspekti s obzirom na procese prerade kože

Otpadne tvari nakon procesa prerade kože imaju izrazito štetan utjecaj na okoliš. Nepažljivo odlaganje krutog otpada i emisije plinova koje se ispuštaju tijekom procesa negativno se odražavaju na okoliš. Tijekom procesa štavljenja otpuštaju se velike količine vode i polutanata. Kemikalije u tim procesima otpuštaju onečišćujuće sedimente koji negativno utječu na ekologiju voda. Mulj koji se stvara tijekom proizvodnje kože čini upravljanje čvrstim otpadom teško provodljivim zbog slabe biorazgradljivosti koža. Kože se sporo razgrađuju, a nakon obrada s različitim sredstvima tijekom procesa prerade postaju još otpornije prema kemijskoj, termalnoj i mikrobiološkoj razgradnji. Ovakav otpad stvara prijetnju ekologiji i vodenim sustavima koji su u blizini tvornica koža. Različiti hlapivi organski spojevi koji se ispuštaju tijekom procesa štavljenja predstavljaju rizik za atmosferu ako njihovo otpuštanje nije kontrolirano [57].

Kako bi se postigla prerada kože u skladu s pozitivnim utjecajem na okoliš, razvijene su metode kojima se reducira štetan otpad. Čišća proizvodnja može poboljšati industrijsku učinkovitost na način da se reducira stvaranje otpada čime se reducira njegov utjecaj na okoliš, reduciranje troškova proizvodnje te povećanje ekonomske učinkovitosti [35]. Za smanjenje negativnog utjecaja na okoliš uzrokovan proizvodnjom kože, razvijene su dvije tehnologije. Prva je korištenje tehnologija koje stvaraju manje otpada koje izbjegavaju korištenje štetnih kemikalija te stvaraju kruti otpad koji se može iskoristiti kao nusproizvod. Druga se metoda odnosi na rukovanje s otpadnim vodama te ekološki povoljnim rukovanjem i stvaranjem krutog otpada. Čišće tehnologije koje rezultiraju stvaranjem minimalne količine otpada trebaju biti isplative kako bi bile i ekonomski održive [53]. Utjecaj procesa štavljenja na okoliš je veoma značajan. Procesi priprave kože i štavljenja doprinose 80 – 90% ukupnog zagađenja u industriji te dolazi do stvaranja štetnih plinova, kao što su sumporovodik te do stvaranja krutog otpada i mulja. Otpadne vode nakon završetka procesa su obojene, mutne, neugodnog mirisa, sadrže zaostale kemikalije od procesa, s visokim udjelima kroma, sulfata, dušika, klorida, masnoća i ostataka pesticida. U vodi se mogu pojaviti i zaostale dlake. Kako bi se spriječilo daljnje zagađenje, uvodi se primjena produkata na bazi enzima u raznim koracima prerade kože, u procesima uklanjanja dlaka, nagrizanja te odmašćivanja [60, 61].

Sa svrhom kontrole količine štetnih tvari koje se ispuštaju tijekom ovih procesa, potrebno je provoditi određene mjere kao što su smanjenje upotrebe kroma u procesima štavljenja tj. korištenje trovalentnog umjesto heksavalentnog kroma te njegova ponovna uporaba, izbjegavanje korištenje koža obrađenih s otpornim insekticidima i fungicidima, korištenje neorganskih otopina za bojanje i završne obrade, smanjenje skladištenja organskog materijala, racionalno korištenje vode te jednom upotrijebljenu vodu ponovno iskoristiti u procesima prerade kože [61].

II. EKSPERIMENTALNI DIO

Zadatak i plan provedbe istraživanja

Istraživanja prikazana u ovom radu provedena su sa svrhom primjene ekološki prihvatljive predobrade hladnom kisikovom i argonovom plazmom na uzorcima goveđe kože namijenjenih za izradu obuće, dijelova obuće, ali i ostalih proizvoda od kože. Kako je manji broj objavljenih radova u području pred/obrada goveđe kože hladnom niskotlačnom plazmom, time je i interes za istraživanja u ovom području veći. Hladna niskotlačna plazma instalirana je na Sveučilištu u Zagrebu Tekstilno-tehnološkom fakultetu, u Laboratoriju za obradu plazmom (voditelj izv. prof. dr. sc. S. Ercegović Ražić), koji je osnovan 2008. godine.

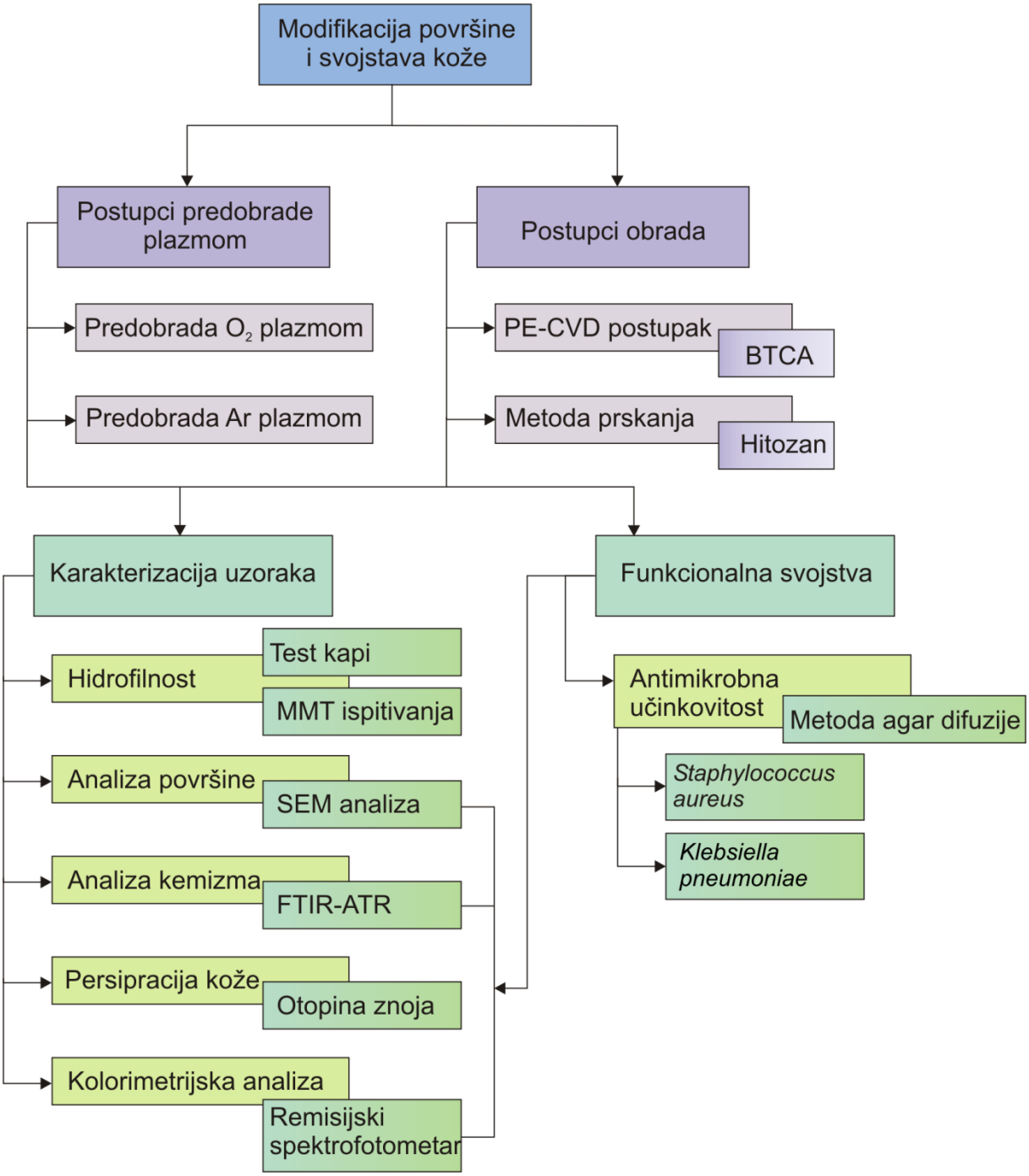
Kako je dio istraživanja u području obrade koža vezan uz istraživanja u okviru znanstvenog projekta financiranog od Hrvatske zaklade za znanost pod nazivom *Udobnost i antimikrobna svojstva tekstila i obuće* (voditelj prof. dr. sc. Z. Skenderi), saznanja dobivena ovim istraživanjem doprinjet će donošenju zaključaka o antimikrobnim i funkcionalnim (uporabnim) svojstvima kože nakon provedbe modifikacija površine i svojstava kože.

U okviru ovog rada provedene su predobrade plazmom uz radne plinove kisika i argona visoke čistoće na uzorcima goveđih koža, u svrhu kemijske i fizikalne aktivacije površine radi postizanja učinkovite antimikrobne obrade ekološki povoljnim sredstvom hitozanom koji je nanesen na aktiviranu površinu kože metodom horizontalnog prskanja. Radi postizanja boljeg umrežavanja strukture i fiksiranja sredstva unutar strukture kože, provedena je obrada polikarboksilnom BTCA kiselinom direktno u komori plazme.

Analiza površine ispitivanih uzoraka kože provedena je u suradnji s Naravoslovnotehniškom fakultetom u Ljubljani, Oddelek za tekstilstvo, grafiko in oblikovanje, Ljubljana (Slovenija) na elektronskom SEM mikroskopu JEOL LV-6060 (doc. dr. sc. M. Gorjanc). Analiza funkcionalnih skupina uzoraka kože provedena je primjenom FTIR-ATR spektrofotometra instaliranog na Zavodu za tekstilnu kemiju i ekologiju, pri TTF-u (izv. prof. dr.sc. S. Flinčec Grgac), te će doprinjeti u donošenju ocjene o utjecaju pred/obrada plazmom, antimikrobnim sredstvom i BTCA na kemizam goveđih koža. Utjecaj predobrade plazmom na hidrofilnost (kapilarnost, transport vode) uzoraka ispitana je primjenom jednostavnog testa kapi i uređaja Moisture Management Tester-a (MMT) instaliranog na Zavodu za tekstilnu kemiju i ekologiju, pri TTF-u (izv. prof. dr. sc. A. Tarbuk). Kako bi se utvrdila promjena obojenja uzorak vegetabilno štavljene kože podvrgnut je močenju u alkalnoj otopini znoja kako bi se izlučio višak tanina i drugih netaninskih tvari koje zbog velike količine unutar stukture kože ima snažan antimikrobni učinak te ga je nepotrebno naknadno obrađivati. Remisijskim spektrofotometrom uzorci kože snimljeni su prije i nakon procesa močenja kako bi se utvrdila promjena obojenja objektivnim mjerenjem koloristiških prametara boje i ukupne razlike u boji (izv. prof. dr. sc. A. Sutlović).

Učinkovitost pred/obrada plazmom i hitozanom potvrđena je kod nekih uzoraka kože mikrobiološkim analizama spram dvije bakterijske vrste - *Staphylococcus aureus* i *Klebsiella pneumoniae*, provedbom kvalitativnog testa difuzije na Zavodu za mikrobiologiju, PMF-a Sveučilišta u Zagrebu (doc. dr. sc. T. Ivanković).

Shematski prikaz provedbenog plana istraživanja



5. Materijali i metode ispitivanja

5.1. Karakterizacija ispitivanih uzoraka kože

Ispitivanja su provedena na uzorcima poluprerađenih goveđih koža proizvedenih od hrvatskog proizvođača kože Viviani d.o.o., Rešetari. Ispitivale su se 4 različito obrađene kože, prikazane u tab. 3. Dva uzorka koža su štavljena kromom te su karakteristične plavkaste (tirkizne) boje, od kojih je jedan cjepanik dobiven rezanjem (odvajanjem) lica kože. Treći uzorak kože je vegetabilno štavljen, krut je i smeđe boje, a četvrti uzorak kože štavljen je sintetskim štavilom (Cr free) i svjetlo je ružičaste boje. Dimenzije uzoraka na kojima su provedena ispitivanja su 100 x 100 mm. Boja uzoraka potječe od upotrebljenog štavila, ali i recepture koja se u ovoj fazi prerade kože koristi u industrijskim uvjetima.

Tablica 3. Osnovne karakteristike ispitivanih uzoraka kože

Uzorak - opis uzorka		
Uzorak I	**Opis uzorka**	**Izgled površine**
kromno štavljeni uzorak kože c/c lice – krom/ crust lice – natur	Boja: tirkizna (plavkasta) Debljina: 1,1 – 1,3 mm Vrsta uzroka: poluprerađena goveđa kromno štavljena i hidrofobirana koža punog prirodnog lica	
Uzorak II	**Opis uzorka**	**Izgled površine**
c/c cjepanik – krom/crust cjepanik – natur	Boja: tirkizna (plavkasta) Debljina: 1,0 – 1,2 mm Vrsta uzroka: poluprerađena goveđa kromno štavljena hidrofobirana koža bez prirodnog lica	
Uzorak III	**Opis uzorka**	**Izgled površine**
vegetabilno štavljeni uzorak	Boja: smeđa Debljina: 2,0 – 2,2 mm Vrsta uzorka: vegetabilno štavljena goveđa koža punog prirodnog lica; sredstvo za štavljenje: tanin	
Uzorak IV	**Opis uzorka**	**Izgled površine**
sintetski štavljeni uzorak - Cr free	Boja: svjetlo ružičasta Debljina: 1,1 – 1,3 mm Vrsta uzorka: poluprerađena goveđa koža punog prirodnog lica, sintetski štavljena; nije hidrofobirana	

5.2. Procesi predobrade površine kože niskotlačnom plazmom

S ciljem učinkovitijih procesa obrada antimikrobnim sredstvom, koje su se provodile u okviru ovog rada, provedene su predobrade površine koža primjenom ekološki vrlo prihvatljive tehnologije hladne niskotlačne plazme. Obrade su provedene na niskotlačnom plazma uređaju tipa Nano LF-40kHz, tt. Diener Electronic GmbH. Radi se o sustavu koji ima niskofrekventni generetor radne frekvencije 40 kHz, maksimalnu snagu od 1000 W, raspon radnog tlaka od 0,1 do 10 mbar, i podesiv protok plina s maksimalnom vrijednošću do 400 cm^3/min. Vrijeme obrada je također podesivo i ovisi o željenim učincima i vrsti uzorka koji se obrađuje.

Uređaj je sastoji od nekoliko povezanih jedinica: sastavni dio uređaja čini vakuumska komora volumena 24 litre izrađena od nehrđajućeg čelika dimenzija 267 x 420 mm. Unutar komore se nalaze elektrode povezane s četiri nosača na kojima se uzorci mogu istovremeno obrađivati. Sa stražnje strane uređaja se nalaze dva otvora za dovod plina, a njihov protok kontroliraju igličasti ventili izrađeni od mesinga. Pomoću ventila fino se podešava protok plina. Zbog sigurnosti rukovanja, uređaj ima sigurnosne sklopke komore i vrata te pirani senzor. Glavni dio uređaja, generator niske frekvencije 40 kHz, podesive snage također sadrži sigurnosnu sklopku. Uređaj sadrži i otvor za odvođenje plinova iz komore koji omogućava ventilaciju kroz fleksibilnu metalnu cijev. Vakuumska pumpa tipa D&B (Leybold) usisne snage oko 8 m^3/h sadrži elekromagnetski ventil koji onemogućuje ulazak para ulja u vakuum komoru te može raditi uz upotrebu nekorozivnih plinova, kao što su kisik i argon. Sastavni dio sustava su boce s procesnim plinovima koji su komprimirani pod tlakom od 200 bara, a koji se primjenom redukcijskog ventila (reduciraju tlak na maks. 1,5 -2 bara) dovode do plazma uređaja pomoću poliamidnih cijevi.

5.2.1. Predobrada površine kisikovom (O_2) plazmom

Prije obrade plazmom, uzroci su predsušeni (na temp. 50 °C) kako bi se uklonio višak vlage te ubrzao proces postizanja razine niskog tlaka. Proces predobrade kisikovom plazmom proveden je u svrhu čišćenja i kemijske aktivacije površine supstrata. Prilikom aktivacije dolazi do privremenog povećanja površinske energije čime se povećava afinitet supstrata prema sredstvima za obradu. Reakcijom reaktivnih čestica plazme i kemijskih skupina na površini supstrata nastaju nove funkcionalne skupine na njegovoj površini. Kako bi se postigla što bolja predobrada uzoraka, proces je potrebno optimirati za svaki uzorak. S obzirom da su uzorci štavljeni različitim postupcima, tako se i njihova svojstva razlikuju te se svaki od njih obrađivao u jedinstvenim uvjetima, kako je prikazano u tablici 4. Nakon završetka predobrade, proveden je postupak ventilacije vakuum komore u trajanju od 10 sekundi na razinu atmosferskog tlaka.

Tablica 4. Uvjeti predobrade kisikovom (O_2) plazmom

Uzorak	P [W]	t [min]
kromno štavljeni	500/800	20/20
cjepanik kromno štavljeni	500/800	10/10
vegetabilno štavljeni	500/500	10/20
	800	10
sintetski štavljeni	500/800	10/10

P [W] - snaga; *t* [min] - vrijeme obrade

Razina inicijalnog tlaka iznosila je 0,18 mbar kako bi se u procesima predobrade osigurala razina radnog tlaka pri 0,32 do 0,34 mbar-a za definiranu veličinu uzorka. Nakon provedenih ispitivanja i provedenog optimiranja parametara procesa aktivacije površine supstrata (kože) varijacijama vremena i snage, definirani su sljedeći uvjeti predobrade kisikovom plazmom:

- tlak, *p*: 0,32 - 0,34 mbar
- vrijeme obrade, *t*: 10 i 20 min
- snaga, *P*: 500 W i 800 W
- protok plina, *q*: 50 - 60% (200 - 240 cm^3/min)
- radna frekvencija, *f*: 40 kHz
- dimenzije uzoraka, *l x h*: 100 x 100 mm

5.2.2. Predobrada površine argonovom (Ar) plazmom

Osim predobrada O_2 plazmom na svim uzorcima koža provedena je predobrada Ar plazmom. Argon je inertni (plemeniti) plin te prilikom obrade argonovom plazmom dolazi do fizikalnih reakcija (ablacije) na površini supstata. Ovom predobradom također dolazi do aktivacije površine supstrata, uz optimirane uvjete predobrade Ar plazmom. Uvjeti procesnih parametara predobrade (frekvencija, tlak, snaga i protok plina) isti su kao i O_2 predobradom, ali je vrijeme trajanja procesa predobrade kod nekih uzoraka dulje s obzirom da se radi o inertnom plinu (tab. 5.).

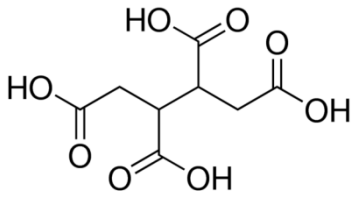
Tablica5. Uvjeti predobrade arognovom (Ar) plazmom

Uzorak	P [W]	t [min]
kromno štavljeni	800	40
cjepanik kromno štavljeni	500	10
vegetabilno štavljeni	500	20
sintetski štavljeni	500	40

P [W] - snaga; *t* [min] - vrijeme obrade

5.3. Sredstva za obradu uzoraka kože

U eksperimentalnom dijelu rada nakon procesa aktivacije površine kisikovom i/ili argonovom plazmom provedene su i obrade primjenom dvaju sredstava: 1,2,3,4-butantetrakarboksilnakiselina (BTCA; Sigma Aldrich) i hitozan (oznaka u radu, CH) kao antimikrobno sredstvo. BTCA je vrsta polikarboksilne kiseline koja se u obradi primjenjivala kao sredstvo za proces polimerizacije direktno u komori plazme, strukture prikazane na sl. 26.



Slika 26. Struktura 1,2,3,4-butantetrakarboksilne kiseline (BTCA)

BTCA dolazi u obliku bijelog praha s temperaturom taljenja u području 196 - 237 °C. Spoj je topiv u vodi i alkoholima te nestabilan u prisustvu prekomjerne topline i svjetla [62]. Spoj je korišten kao sredstvo za naslojavanje pomoću plazme prilikom čega dolazi do njegove polimerizacije na površinu aktivirane površine kože. Prema literaturi [63 - 66], spoj se u obradi tekstilnih struktura koristi kao učinkovito sredstvo za umrežavanje, te je i u ovom radu primjenjeno iz istog razloga.

Za postizanje antimikrobnih svojstava kože korišten je hitozan srednje molekulne mase (100 –300 kDa), $C_{56}H_{103}N_9O_{39}$ (Acros Organics) u obliku bijelog praha netopivog u vodi, ali topivog u kiselinama pri pH < 6,5. Za obrade je pripravljena 1%-tna otopina hitozana u 0,1 M octenoj kiselini, uz miješanje na magnetnoj mješalici kroz nekoliko sati pri temperaturi od 50°C, odn. do potpunog otapanja. Hitozan je nanesen na predobrađenu kožu metodom prskanja (eng. *spraying method*) pomoću laboratorijskog uređaja kojim je provodeno horizontalno raspršivanje sredstva (shematski prikaz na slici 27).

5.3.1. Proces polimerizacije sredstva direktno u komori plazme

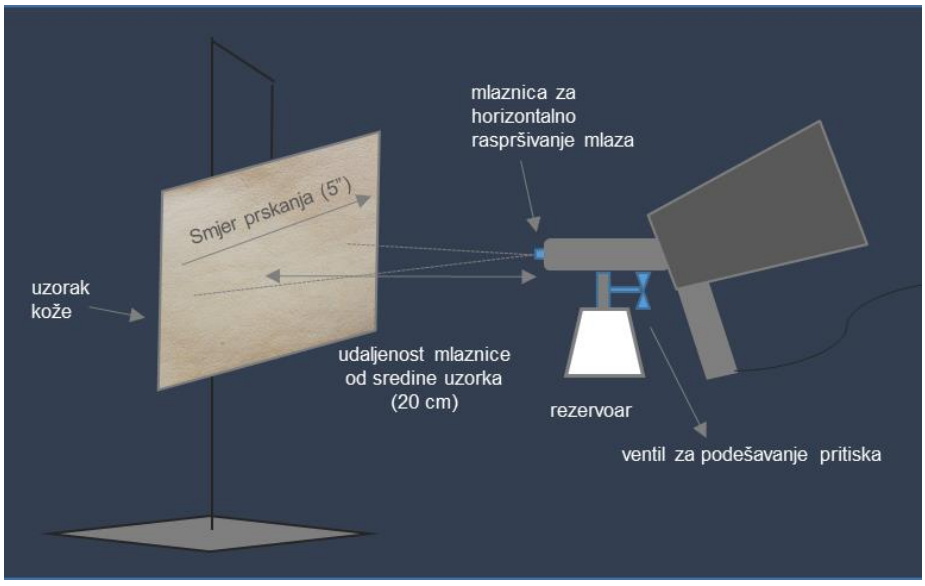
Nakon završenog procesa kemijske i fizikalne aktivacije površine ispitivanih uzoraka kože kisikovom i argonovom plazmom, u jednom kontinuiranom postupku (bez ventilacije vakuum komore između navedenih procesa) proveden je postupak polimerizacije karboksilnom kiselinom - BTCA. Proces obrade kiselinom provodi se spajanjem monomer boce koja sadrži sredstvo u tekućem obliku na otvor za plin čime se uz definirane procesne parametre tlaka, protoka, snage i vremena odvija obrada direktno u komori plazme, temeljena na razlici tlakova između komore plazme i u reagens boci monomera, kao i fizikalnim svojstvima monomera. Za odvijanje procesa obrade primjenom BTCA primjenjeni su sljedeći parametri procesa:

- radni tlak, *p*: 0,5 mbar
- vrijeme obrade, *t*: 30 min
- snaga, *P*: 100 W
- protok plina, *q*: 50% (200 cm^3/min) očitan s obzirom na zadani radni tlak.

Po završetku polimerizacije provedena je obrada antimikrobnim sredstvom - hitozanom na aktiviranu površinu uzoraka kože. Usporedno je provedena i obrada neobrađenih uzoraka kože radi davanja zaključaka o učinkovitosti provedenih predobrada plazmom.

5.3.2. Antimikrobna obrada kože ekološkim sredstvom hitozanom

Kao sredstvo za postizanje antimikrobnih svojstava, primjenjena je 1%-tna otopina hitozana, koja je nanesena na površinu uzorka kože odmah nakon obrade u plazmi. Otopina se nanosila metodom prskanja uz pomoć pištolja za prskanje sa spremnikom za unos otopine. Sredstvo je naneseno na uzorak prskanjem s udaljenosti mlaznice od materijala 20 centimetara u vremenu trajanja od 5 sekundi (shema na slici 27.). Na jedan dio uzoraka, hitozan je nanesen direktno nakon procesa obrade plazmom, nakon čega je proveden postupak fiksiranja sredstva u sušioniku pri 65 °C kroz 15 minuta. Drugi dio uzoraka je po završetku obrade plazmom podvrgnut polimerizaciji s BTCA kako bi se pospješilo vezivanje čestica hitozana na supstrat, a potom je nanesen hitozan u prethodno definiranim uvjetima.



Slika 27. Shematski prikaz obradeuzorka kožeotopinom hitozana metodom horizontalnog prskanja

5.4. Metode ispitivanja

Ispitivanje svojstava kože nakon obrada plazmom u svrhu aktivacije i polimerizacije površine kože te ispitivanje antimikrobne učinkovitosti provedeno je primjenom standardiziranih metoda. Hidrofilnost uzoraka ispitana je na neobrađenim uzorcima i uzrocima obrađenim nakon

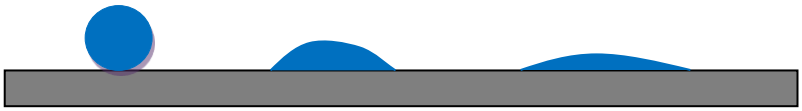
aktivacije kisikovom i argonovom plazmom, kako bi se optimirali parametri obrade plazmom pomoću testa kapi i ispitivanjem sposobnosti prijenosa tekuće vlage na uzorku. Za analizu morfologije površine neobrađenih i obrađenih uzoraka primijenjena je elektronska (SEM) mikroskopija, a za analizu promjena utvđenih na razini kemizma primijenjena je FTIR-ATR spektroskopija. Ispitivanje uporabnih svojstava provedeno je ispitivanjem propusnosti otopine znoja na uzorcima u zadanim uvjetima, a remisijskim spektrofotometrom pratila se promjena obojenja vegetabilno štavljenog uzorka nakon izlaganja močenju u otopini znoja kako bi simuliranim postupcima predvidjeli kako će se uzorak ponašati tijekom nošenja. Antimikrobna učinkovitost obrađenih uzoraka kože ispitana je kvalitativnom mikrobiološkom metodom *difuzija na ploči s agarom* na Zavodu za mikrobiologiju, Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Pritom je korištena i raspoloživa tehnika s drugih zavoda matičnog fakulteta, istraživačkih institucija i fakulteta.

5.4.1. Ispitivanje hidrofilnosti uzoraka kože

5.4.1.1. Test kapi (engl. drop test)

Hidrofilnost neobrađenih i obrađenih uzoraka kože ispitivana je jednostavnim testom kapi, prema AATCC 79-2000 [67]. Kap destilirane vode uz pomoć mikropipete zadanog volumen od 50 µL ispusti se okomito na površinu ispitivanog uzorka s udaljenosti od 40 mm. Promatra se ponašanje kapi i mjeri vrijeme upijanja ili razlijevanja kapi po uzorku. Uz rezultat vremena upijanja kapi, ocjenjuje se i oblik vodenog ostatka vodene kapi nakon prodiranja kapi u unutrašnjost strukture, a koja može ukazivati na jednoličnost provedenih predobrada plazmom (slika 28.).

.



Slika 28. Prikaz razljevanja kapi po površini supstrata

5.4.1.2. Ispitivanje sposobnosti prijenosa tekućine (engl. Moisture Management Tester)

Ispitivanje sposobnosti prijenosa tekućine dvaju uzoraka kože (sinteski štavljenog i kromno štavljenog uzorka kože) provedeno je prema metodi AATCC 195:2011 [67]. Metodom se ispituju svojstva kvašenja prvenstveno tekstilnih materijala, a prema dobivenim rezultatima, može se okarakterizirati 7 tipova materijala:

- vodoodbojan materijal,
- vodonepropustan materijal,

- materijal s malom brzinom apsorpcije i sušenja (sporoapsorbirajući i sporosušeći materijal),
- brzoapsorbirajući i brzosušeći materijal,
- brzoapsorbirajući i sporosušeći materijal,
- vodopropustan materijal,
- materijali sa sposobnošću prijenosa (transporta) tekuće vlage (odjeća za sport).

Ispitivanje je provedeno primjenom uređaja naziva *Moisture Management Tester M290* t.t. SDL Atlas (instaliran na Zavodu za tekstilnu kemiju i ekologiju) koji sadrži dva horizontalno postavljena senzora sa 7 koncentričnih igala između kojih se postavlja uzorak (sl. 29.). Određena količina testne otopine (elektrolita) koja pomaže mjerenju promjene električne vodljivosti, ispusti se na središnji dio lica uzorka, a za vrijeme ispitivanja mjere se promjene električnog otpora uzroka. Mjerenje se provodi tako da se otopina elektrolita kreće u tri smjera: radijalno se širi po površini (po licu) supstrata, prolazi kroz uzorak od površine prema unutrašnjosti (transport tekućine) te se radijalno širi na donjoj površini (po naličju) uzorka. Očitavanja električnog otpora se koriste za izračunavanje sadržaja tekuće vlage koja mjeri transport vlage u više smjerova kroz uzorak.



Slika 29. Moisture Management Tester M290, SDL [68]

Uzorci na kojima se provodi mjerenje su dimenzija 80 x 80 mm. Za ispitivanje se koristi pripremljena otopina (9 g/l) natrijevog klorida, te se podesivodljivost otopine na 16 ± 0,2 mS pri 25 °C dodavanjem natrijevog klorida ili destilirane vode po potebi. Uzorak koji se ispituje postavi se na donji senzor na stranu naličja, nakon podizanja gornjeg senzora. Nakon provedenog ispitivanja u trajanju od 120 sekundi, uređaj se automatski zaustavlja te se dobiva računalni prikaz rezultata.

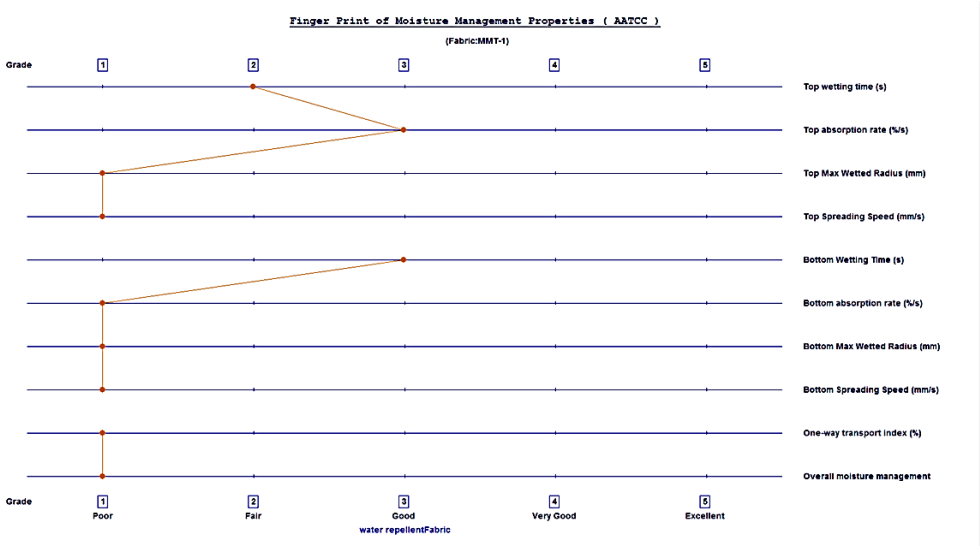
Dobiveni rezultati se koriste za ocjenjivanje svojstava kvašenja materijala korištenjem unaprijed određenih indeksa. Vrijednosti koje se mjere za vrijeme ispitivanja su sljedeće:

- Vrijeme kvašenja (*eng. wetting time*, WT) - vrijeme u (s) kada se lice i naličje uzorka počne kvasiti otopinom elektrolita.
- Brzina apsorpcije (*eng. absorption rate*, $AR_{T,B}$) - prosječna brzina apsorpcije tekuće vlage na licu i na naličju uzorka tijekom ispitivanja, iskazana u odnosu na početnu promjenu sadržaja vode.
- Maksimalni radijus kvašenja (*eng. maximum wetted radius*, MWR) - najveći radijusu izmjeren na licu i naličju uzorka nakon testa.
- Brzina razlijevanja kapi (*eng. spreading speed*, $SS_{T,B}$) -brzina akumulacije kvašenja površine od sredine uzroka gdje se kapa testna otopina do maksimalnog radijusa kvašenja.
- Sposobnost kumulativnog jednosmjernog transporta (*eng. accumulative one-way transport capability*, R) - udaljenost između krivulja prostora sadržaja tekuće vlage lica i naličja uzorka kroz zadano vrijeme.
- Ukupna sposobnost prijenosa tekućine (*eng. overall liquid moisture management capability*, OMMC) - indeks ukupne sposobnosti transporta tekuće vlage ispitivanog uzorka, izračunat na temelju triju izmjerenih karakteristika (AR_B, R i SS_B).

Navedene vrijednosti su prikazane tablično, a ukupna ocjena kvasivosti uzorka se daje grafički s obzirom na dobivene rezultate, prema tablici 6.

Tablica 6. Tablica ocjena prema dobivenim vrijednostima indeksa

Indeks		**Ocjena**				
		1	**2**	**3**	**4**	**5**
WT [s]	Lice	≥ 120	20 – 119	5 – 19	3 – 5	< 3
	Naličje	≥ 120	20 – 119	5 – 19	3 – 5	< 3
AR [%/s]	Lice	0 – 9	10 – 29	30 – 49	50 – 100	> 100
	Naličje	0 – 9	10 – 29	30 – 49	50 – 100	> 100
MWR [mm]	Lice	0 – 7	8 – 12	13 – 17	18 – 22	> 22
	Naličje	0 – 7	8 – 12	13 – 17	18 – 22	> 22
SS [mm/s]	Lice	0,0 – 0,9	1,0 – 1,9	2,0 – 2,9	3,0 – 4,0	> 4,0
	Naličje	0,0 – 0,9	1,0 – 1,9	2,0 – 2,9	3,0 – 4,0	> 4,0
R		<- 50	-50 – 99	100 - 199	200 – 400	> 400
OMMC		0,00 – 0,19	0,20 – 0,39	0,40 – 0,59	0,60 – 0,80	> 0,80



Slika 30. Grafički prikaz rezultata tzv. *otiska prsta* (eng. *finger print)* uzorka prema kojemu se daje ukupna ocjena ponašanja materijala

5.4.2. Analiza morfologije uzoraka primjenom SEM mikroskopije

Pretražni elektronski mikroskop (SEM) oznake *Jeol LV-6060* (instaliran na Univerzi v Ljubljani Naravoslovnotehniškoj fakulteti, Oddelek za tekstilstvo, grafiko in oblikovanje) primijenjen je za analizumakro- i mikro-površine neobrađenih uzoraka kože, uzoraka predobrađenih plazmom i antimikrobnim sredstvom (sl. 31.). Skenirajući elektronski mikroskop djeluje na način da koristi fokusirani snop elektrona za skeniranje površine ispitivanog uzorka kako bi dao informacije o karakteristikama površine uzorka. Prilikom fokusiranja snopa elektrona na uzorak, dolazi do različitih interakcija kao što su emisija sekundarnih i povratnih primarnih elektrona. Snop elektrona izbija elektrone koji su u sastavu atoma uzroka. Energije elektrona iz uzorka se skupljaju i mjere detektorima te se uz pomoć mikroprocesora stvara pseudotrodimenzionalna slika. Uzroci se pripremaju tako što se njihova površina naslojava s tankim slojem metala (Au) u vremenu od 20 minuta (za uzorke kože), kako bi se osigurala vodljivost uzorka te spriječilo nakupljanje električnog naboja na površini uzorka te kako bi se poboljšala sekundarna slika [69,70].



Slika 31. Prikaz pretražnog elektronskog mikroskopa, Jeol LV-6060 [80]

5.4.3. FTIR-ATR analiza

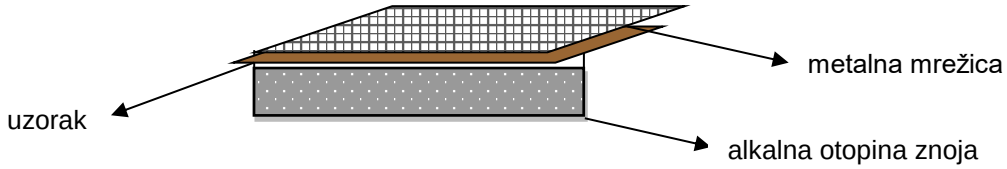
Analiza neobrađenih i obrađenih uzoraka kože provedena je primjenom FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) spektrofotometra oznake *Spectrum 100S (*Perkin Elmer, sl. 32.). Karakteristike uređaja su: raspon valnih duljina od 8300 cm^{-1} do 350 cm^{-1} uz preciznost valnih duljina 0,008 cm^{-1} na 2000 cm^{-1}. Infracrvena IR spektroskopija se zasniva na interakciji između IR zračenja i molekula tj. skupina od dva ili više atoma povezanih kemijskom vezom. Infracrveno zračenje apsorbira materijal, a količina apsorbiranog zračenja se mjeri kao funkcija energije koja može biti izražena u obliku frekvencije. IR zračenje se apsorbira samo ako se njegova frekvencija podudara s frekvencijom vibracije molekulske veze. Apsorbirano zračenje se odražava kao "skok" na spektrogramu. Analiza uzoraka na uređaju je provedena metodom prigušene totalne refleksije ATR(*eng. Attenuated Total Reflectance*) kod koje je IR svjetlost potpuno odbijena prilikom dospijeća na na površinu ATR kristala. Kada je uzorak postavljen na kristalnu površinu, IR zraka prodire kroz uzorak do određene dubine ovisno o kutu upada zrake i indeksu loma ATR kristala, kao i o vrsti uzorka [72].



Slika 32. FTIR spektrofotometar Spectrum 100S FTIR-ATR, Perkin Elmer [73]

5.4.4. Ispitivanje propusnosti otopine znoja

Ispitivanje se provodilo na neobrađenim uzorcima i uzorcima predobrađenim kisikovom i argonovom plazmom kako bi se ispitala sposobnost upijanja i propusnosti alkalne otopine znoja u simuliranim laboratorijskim uvjetima. Ispitivanjem se simuliraju stvarni uvjeti u kojima je stopalo u doticaju s kožom (uložak ili tabanica). Metoda se provodi na način da se prethodno izvagani uzorci dimenzija 100 x 100 mm postave na Petrijevu zdjelicu u kojoj se nalazi otopina alkalnog znoja volumena 40 ml, pH 8 ± 0,2 te se preko njih postavi metalna mrežica (sl. 33.). Ispitivanje je provedeno u sušioniku na temperaturi 37 °C kroz 8 sati. Nakon završetka ispitivanja, uzorcima se određuje masa (m_2, g) i mjeri se zaostali volumen otopine znoja pipetom, te se izračunava količina propuštenog znoja (ΔV, ml).



Slika 33. Metoda ispitivanja propusnosti otopine znoja kroz lice ispitivanog uzorka kože

5.4.5. Određivanje razlike u obojenosti uzoraka nakon močenja

Vegetabilno štavljeni uzorak obrađen je u otopini alkalnog znoja kroz 15 h u sušioniku pri temperaturi od 37 °C. Tako obrađeni uzorak je podvrgnut predobradi s Ar plazmom i obrađen hitozanom metodom prskanja. Korištenjem remisijskog spektrofotometra DataColor SP600 + CV UV (instaliran u Zavodu za tekstilnu kemiju i ekologiju) određene su razlike u obojenosti između uzoraka različitih pred/obrada u odnosu na neobrađeni uzorak. Remisijski spektrofotometar ima mjerno područje 360-700 nm. Instrument je opremljen integracijskom kuglom promjera 152 mm (mjerna glava instrumenta) koja osigurava geometriju osvjetljavanja mjernog uzorka d/8º (kut upadnog svjetla na mjereni uzorak). Izvor svjetlosti unutar instrumenta je ksenonska žarulja koja je opremljena dodatnim filtrima da bi omogućila

simulaciju standardnog dnevnog svjetla oznake D65 uključujući i UV komponentu za mjerenje bjeline optički bijeljenog materijala (sl. 34.).



Slika 34. Remisijski spektrofotometar DataColor SP600+ CV UV [81]

Uzorcima su spektrofotometrijski određeni koloristički parametari (*L**, *a**, *b**, *C**, *h**). Određena je ukupna razlika u boji ΔE* obrađenih uzoraka u odnosu na neobrađeni (jednadžba 1).

$$\Delta E^*_{ab} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta C^*)^2 + (\Delta H^*)^2]^{1/2} \quad (1)$$

Gdje je:

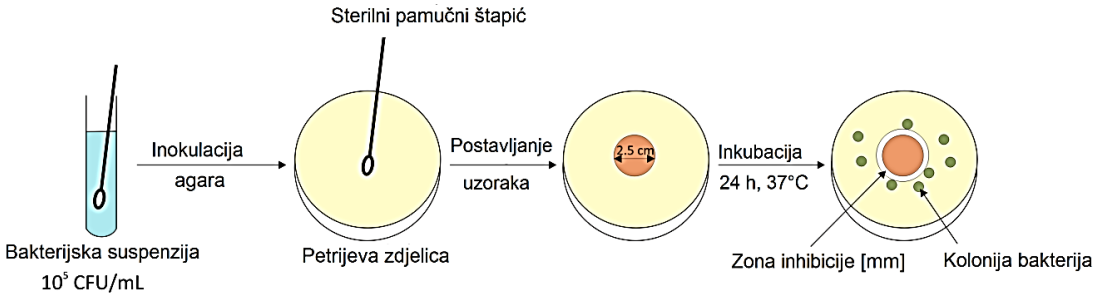
*ΔL** - razlika u svjetlini

*ΔC** - razlika u zasićenosti

*ΔH** - razlika u tonu

5.4.6. Antimikrobna učinkovitost kože primjenom kvalitativnog mikrobiološkog testa

Postupak ispitivanja antimikrobne učinkovitosti obrađenih uzoraka proveden je sukladno normi HRN EN ISO 20645:2008 [71]. Učinkovitost je ispitivana spram dvije vrste bakterija, gram-negativne *Klebsiella pneumoniae* i gram-pozitivne *Staphylococcus aureus*. Postupak ispitivanja antimikrobne učinkovitosti uzoraka prikazan je na sl. 35.



Slika 35. Shematski prikaz postupka ispitivanja antimikrobne učinkovitosti uzoraka

Proces se odvija kroz nekoliko koraka: u prvom se koraku pripremaju uzorci kružnog oblika promjera 25 mm. Zatim se provodi inkoluacija agara unutar Petrijevih zdjelica sa suspenzijom bakterijske kulture (koncentracija 1-5 x 10^5 CFU/ml) sačinjenom od gram-pozitivne bakterije *Staphylococcus aureus* ili gram-negativne bakterije *Klebsiella pneumoniae*. Na površinu inokuliranog agara postavlja se uzorak te se njegova inkubacija odvija kroz 24 sata pri 37 ± 1 °C. Nakon provedenog postupka, dređuje se antibakterijska učinkovitost ovisno o vidljivoj zoni inhibicije na agaru od ruba uzorka, te o rastu bakterija ispod uzorka. Veličina zone inhibicije se izračunava prema prikazanoj jednadžbi 2.

$$H = \frac{D - d}{2} \tag{2}$$

Gdje je:

H – zona inhibicije u mm

D – ukupan promjer uzorka i zone inhibicije u mm

d – promjer uzorka u mm

Ocjena antimikrobnog učinka se daje prema kriterijima navedenim u tablici 7. Nakon što je izmjerena zona inhibicije, uzorak se uklanja s agara te se promatra površina pod mikroskopom sa povećanjem od 20x i donosi se konačna ocjena.

Tablica 7. Kriteriji određivanja antimikrobne učinkovitosti prema normi

Zona inhibicije [mm]	Rast[1]	Opis	Procjena
> 1	nema	zona inhibicije prelazi 1 mm, nema rasta[2]	dobar učinak
1-0	nema	zona inhibicije do 1 mm, nema rasta[2]	
0	nema	nema zone inhibicije niti rasta[3]	
0	blagi	nema zone inhibicije, samo neke ograničene kolonije, rast je gotovo potpuno reduciran[4]	ograničena učinkovitost
0	srednji	nema zone inhibicije, u usporedbi s kontrolnim uzorkom rast je upola manji[5]	nedovoljan učinak
0	velik	nema zone inhibicije, u usporedbi s kontrolnim uzorkom, redukcija rasta je zanemariva	

[1] Rast bakterija u hranjivom mediju ispod uzorka

[2] Veličina zone inhibicije se treba djelommično uzeti u obzir; velika zona inhibicije može ukazivati na određenu količinu aktivnih tvari na površini uzorka ili slabo fiksiranje reagensa na supstrat

[3] Odsutnost rasta može biti znak dobrog učinka jer nastanak zone inhibicije može biti spriječen slabom difuzijom aktivne supstance

[4] Ograničen rast ukazuje na ograničenu učinkovitost

[5] Smanjena gustoća bakterijskog rasta može označavati broj kolonija ili promjer kolonija

6. REZULTATI I RASPRAVA

6.1. Rezultati ispitivanja hidrofilnosti uzoraka

Ispitivanje hidrofilnosti provedeno je na svim uzorcima kože primjenom testa kapi, dok su uzorci kože štavljene sintetskim štavilom i kože štavljene kromom ispitani prije i nakon predobrada argonovom i kisikovom plazmom na sposobnost prijenosa tekuće vlage primjenom MMT uređaja. Rezultati su prikazani u tablicama 8. i 9., te grafičkim prikazima, sl. 36.- 47.

6.1.1. Test kapi

Rezultati ispitivanja vremena upijanja kapi vode navedeni u tablici 8. prikazuju rezultate ispitivanja uzoraka kože obrađenih kisikovom i argonovom plazmom, variranjem različitih parametara obrade plazmom (vrsta plina, radna snaga, vrijeme obrade) s ciljem utvrđivanja uvjeta obrada plazmom koji bi rezultirali optimalnim hidrofilnim učinkom.

Tablica 8. Rezultati ispitivanja utjecaja aktivacije kisikovom i argonovom plazmom na vrijeme upijanja kapi s površine uzoraka kože

Oznaka uzorka - predobrada		**t [s]**
kromno štavljeni uzorak	neobrađeni	/
	O_2 plazma	53,7
	Ar plazma	38,1
kromno štavljeni (cjepanik)	neobrađeni	280,0
	O_2 plazma	8,6
	Ar plazma	1,4
vegetabilno štavljeni uzorak	neobrađeni	111,7
	O_2 plazma	45,1
	Ar plazma	21,0
sintetski štavljeni uzorak	neobrađeni	41,1
	O_2 plazma	5,1
	Ar plazma	50,0

/ - hidrofoban uzorak - ne kvasi površinu u vremenu od 2 sata

Na temelju dobivenih rezultata prikazanih u tablici 8., vidljiv je značajan utjecaj predobrade kisikovom i argonovom plazmom za postizanje hidrofilnosti površine i svojstava ispitivanih koža. Optimiranjem parametara predobrade plazmom, dobiveni rezultati pokazuju da se sposobnost kvašenja površine i sposobnost upijanja vode povećala kod svih uzoraka nakon predobrade, dok je jedino kod sintetski štavljenog uzorka vrijeme upijanja kapi nakon predobrade Ar plazmom pokazao gotovo nepromijenjeno vrijeme potrebno da se kap upije jer već i neobrađeni uzorak kože ima dobra svojstva upijanja vode (dobru hidrofilnost) s obzirom da mu je primarna namjena za izradu podstavnih dijelova obuće. Postizanje zadovoljavajuće

razine hidrofilnosti značajno je radi udobnosti nošenja i izmjene tekuće vlage kod gotovog kožnog proizvoda, posebno kada se koriste za izradu dijelova obuće kao što su ulošci i podstave, koji bi trebali osigurati dobru propusnost tekućina (npr. tijekom perspiracije) time i udobnost nošenja. Posebno značajna promjena u vidu povećane hidrofilnosti postignuta je kod kromno štavljenog uzorka koji je izrazito hidrofoban prije predobrade plazmom.

6.1.2. Rezultati ispitivanja sposobnosti prijenosa tekućine kroz uzorak

Određena količina otopine (elektrolita) koja pomaže mjerenju promjene električne vodljivosti, kapa se na lice uzorka, a za vrijeme ispitivanja mjere se promjene električnog otpora. Dobiveni rezultati se koriste za ocjenjivanje svojstava kvašenja površine materijala, razlijevanja kapi tekućine po površini, transporta tekućine kroz uzorak, brzinu kvašenja gornje i donje površine, korištenjem unaprijed određenih indeksa. Te vrijednosti pomažu u donošenju konačne ocjene o sposobnosti prijenosa vode uzorka grafičkim prikazima - mjerenjem ukupnog sadržaja vode u vremenu gornje i donje površine uzorka i tzv. *otisak prsta* uzorka kojim se daje ocjena: vodoodbojan, vodonepropustan ili vodopropustan. Metoda je prvenstveno namijenjena za ispitivanje sposobnosti transporta tekućine na materijalima (tkaninama i pletivima), stoga su ispitivanja provedena uspješno samo na dva uzorka kože, dok se kod ostala dva usljed njihove specifične površine ispitivanje nije moglo provesti, odn. senzor ih registrira kao naslojene proizvode (metoda nije pogodna za mjerenje svojstava prijenosa tekućine naslojenih materijala). Rezultati su prikazani u tab. 9. i na sl. od 36.do 47.

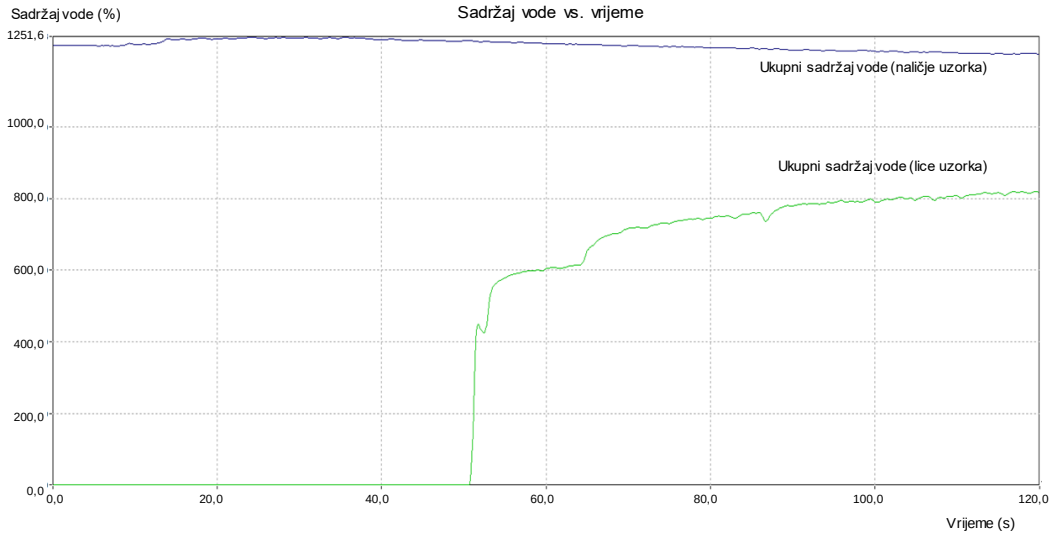
Tablica 9. Rezultati ispitivanja sposobnosti prijenosa kapljevine na uzorcima kože

Oznaka uzorka - predobrada	Cr štava /neobrađr.	Cr štava/ Ar plazma	Cr štava/ O_2 plazma	Sintetska štava/ neobrađr.	Sintetska štava/ Ar plazma	Sintetska štava/ O_2 plazma
WTt [s]	49,889	20,686	22,464	12,730	7,395	9,548
WTb [s]	8,330	19,282	12,449	7,676	120,00	54,008
ARt [%/s]	34,2548	47,8232	68,061	17,9296	43,7855	59,3913
ARb [%/s]	3,7169	5,2508	25,7523	2,9481	0,0	16,1927
MWRt [mm]	5	5	5	10	5	5
MWRb [mm]	5	5	5	10	0	5
SSt [mm/s]	0,0998	0,2395	0,2207	0,4853	0,6595	0,5136
SSb [mm/s]	0,5744	0,2568	0,3957	0,5989	0,0	0,0923
R [%]	808,3677	-575,119	-295,446	345,3933	-823,357	-601,146
OMMC	0,5000	0,0	0,0438	0,4393	0,0	0,0172

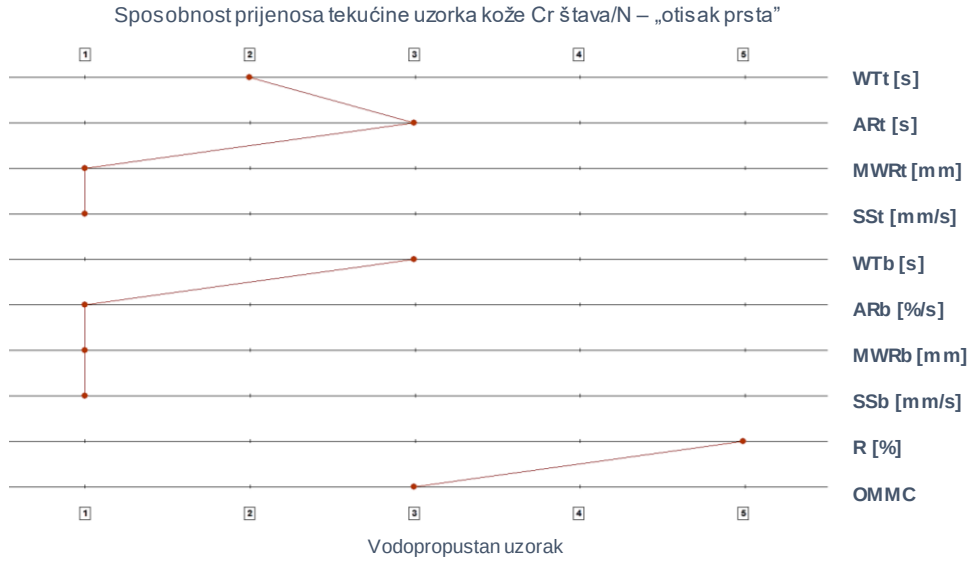
WTt,b [s] - vrijeme kvašenja kapi sa lica/naličja; ARt,b[%/s] - brzina apsorpcije kapi sa lica/naličja; MWRt,b [mm] - maksimalni radijus kvašenja lica; SSt,b [mm/s] - brzina razlijevanja kapi na licu/naličju; R [%] - sposobnost akumulativnog jednosmjernog transporta; OMMC - ukupna sposobnost prijenosa tekuće vlage.

Na temelju dobivenih rezultata, prikazanih na sl. 36.-47. uočava se značajna razlika između uzoraka predobrađenih Ar i O_2 plazmom u odnosu na neobrađene uzorke. S obzirom da se

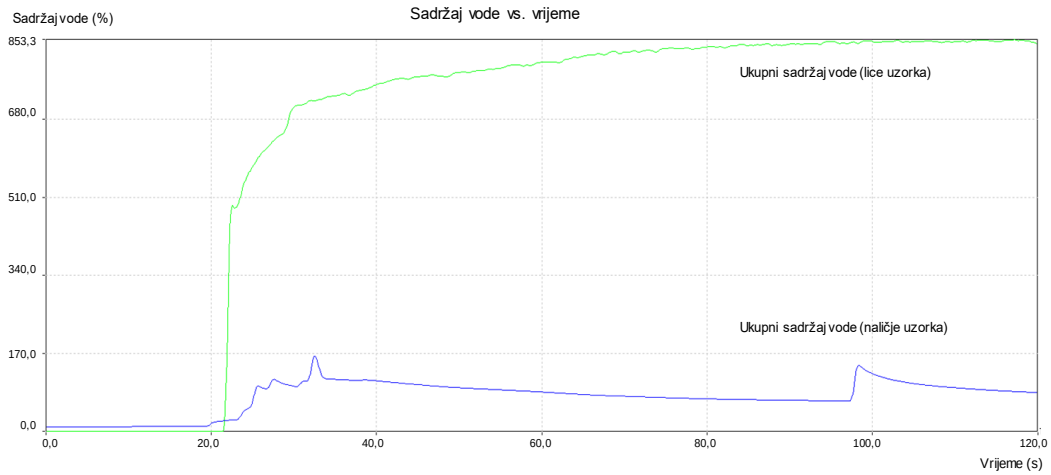
radi o dinamičkom testu određivanja sposobnosti transporta otopine elektrolita kroz uzorak, od trenutka kontakta kapi s površinom i dalje njenim prijenosom, brzinom prijenosa po i kroz unutrašnjost strukture, te kvašenjem donje površine ili naličja, omogućava se davanje ocjene o „dišljivosti“ uzorka, odn. sposobnosti prijenosa (transporta) tekuće vlage u zadanom vremenu. Predobrade plazmom uz argon i kisik modificiraju površinu supstrata i time svakako utječu na promjene sorpcijskih karakteristika uzoraka koji su ispitani (sl. 38.- 41. i sl. 44.- 47.).



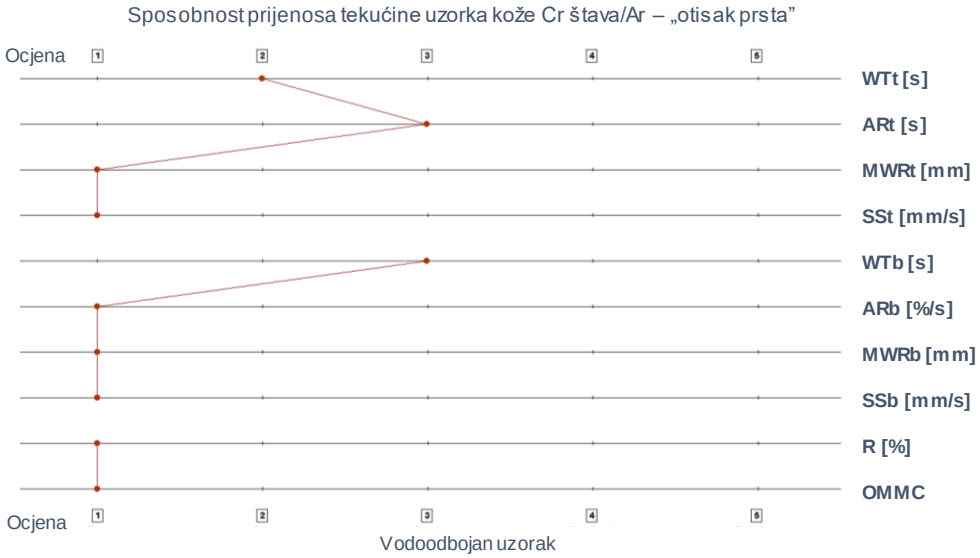
Slika 36. Grafički prikaz ukupnog sadržaja vode u vremenu na licu i naličju uzorka kromno štavljene kože bez predobrade plazmom



Slika 37. Grafički prikaz sposobnosti prijenosa tekućine kod uzorka kromno štavljene kože bez predobrade plazmom; tzv. „otisak prsta“ (engl. *Finger print*)

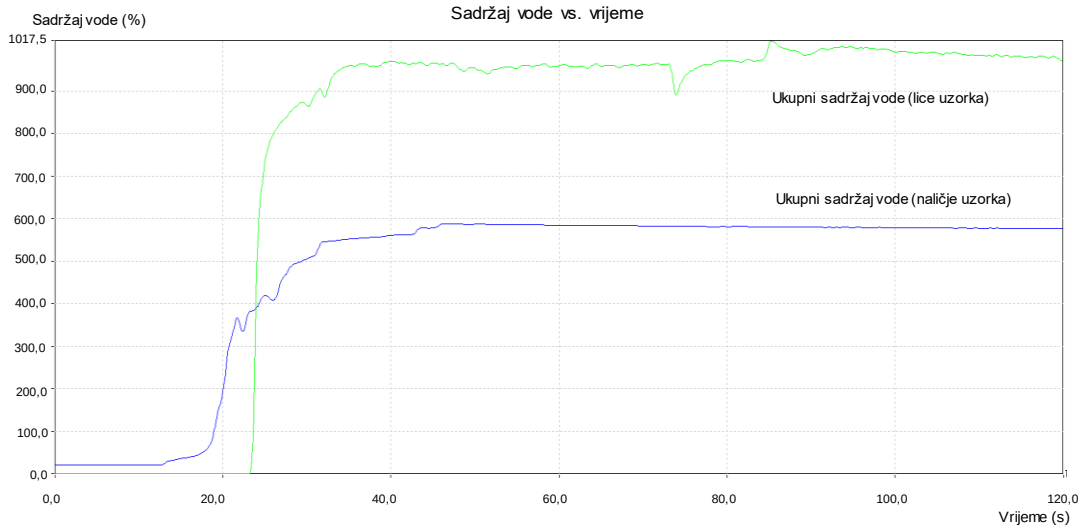


Slika 38. Grafički prikaz ukupnog sadržaja vode u vremenu na licu i naličju uzorka kromno štavljene kože uz predobradu Ar plazmom

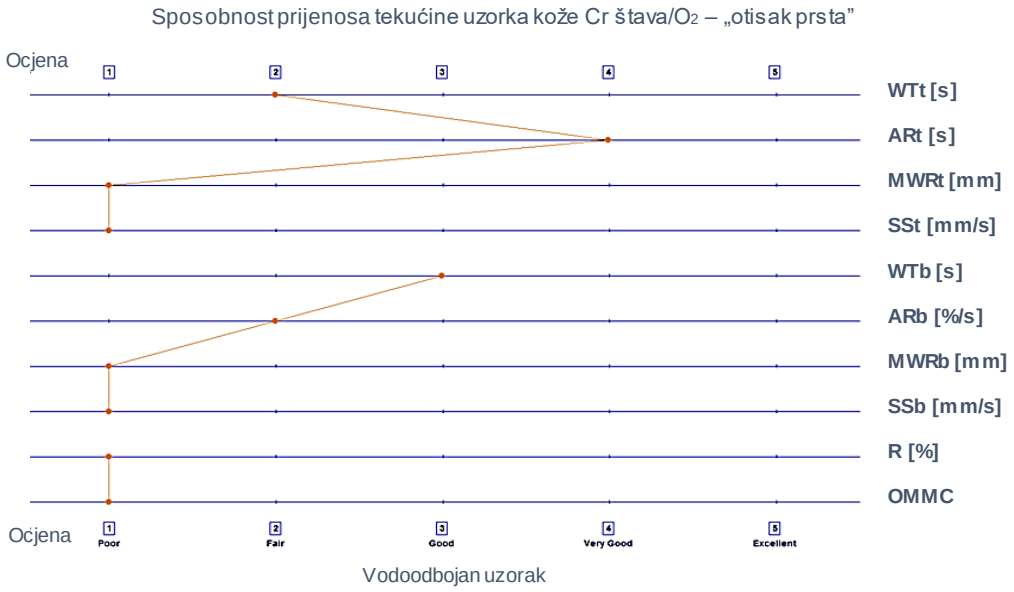


Slika 39. Grafički prikaz sposobnosti prijenosa tekućine kod uzorka kromno štavljene kože uz predobradu Ar plazmom; tzv. „otisak prsta" (*engl. Finger print*)

Na temelju dobivenih dijagrama tzv. otiska prsta uzorka kromno štavljene kože prije i nakon predobrade Ar plazmom uočava se kraće vrijeme kvašenja površine gornje površine (lica) uzorka, te veća brzina apsorpcije otopine elektrolita, međutim vrijeme kvašenja donje površine (naličja) uzorka je duže u odnosu na neobrađeni uzorak. Iz rezultata je vidljiva lošija sposobnost transporta i ukupan prijenos tekućine kroz uzorak, iako je površina dostupnija, strukturiranija i vrijeme upijanja duplo kraće od neobrađenog uzorka (tab. 9). Takav rezultat može ukazivati na promjene morfološke strukture kolagenskih vlakana koje su uvjetovane predobradom plazmom. U prilog raspravi ide i analiza morfoloških promjena prikazanih SEM snimkama na sl.48. i 49. uzorka kromno štavljene kože prije i nakon predobrade Ar plazmom koja je značajno izmijenjena s vidljivim granulastim ostacima po površini uzorka.



Slika 40. Grafički prikaz ukupnog sadržaja vode u vremenu na licu i naličju uzorka kromno štavljene kože uz predobradu O_2 plazmom



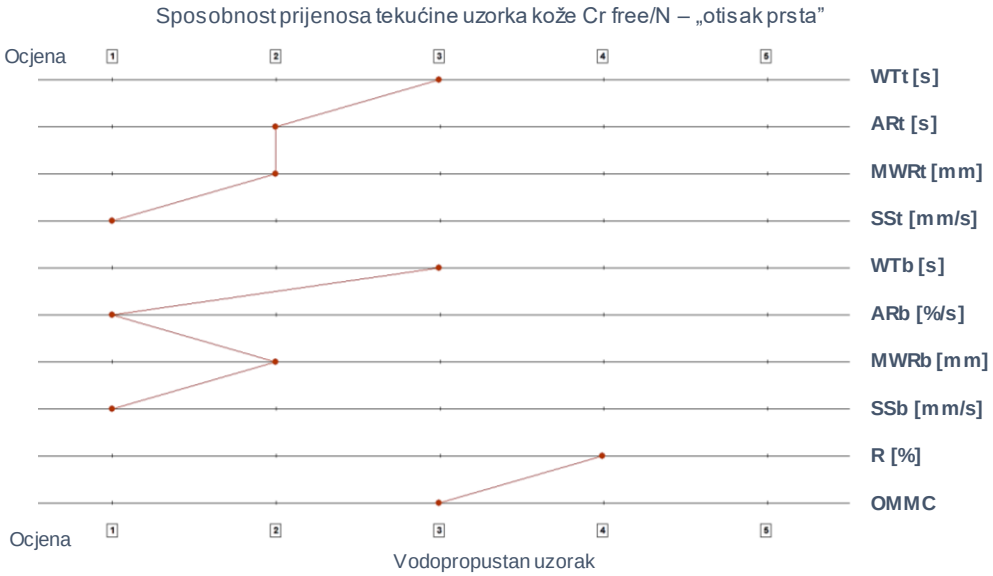
Slika 41. Grafički prikaz sposobnosti prijenosa tekućine kod uzorka kromno štavljene kože uz predobradu O_2 plazmom; tzv. „otisak prsta" (*engl. Finger print*)

Slično ponašanje pokazuje i uzorak predobrađen O_2 plazmom, pri čemu se iz rezultata navedenih u tablici 9. i ukupne ocjene iz grafičkih prikaza sl. 40. i 41. može vidjeti da je vrijeme kvašenja površine gornje površine (lica) uzorka kraće, veća je vrijednost prosječne brzine apsorpcije otopine elektrolita, dok je vrijeme kvašenja donje površine (naličja) uzorka duže u odnosu na neobrađeni uzorak. Iz rezultata se vidi da je brzina razlijevanja kapi po licu nakon predobrada plazmom veća od neobrađenog uzorka, dok je na naličju minimalna (nula kod Ar predobrade).

Općenito se može zaključiti da oba uzorka imaju slabiji jednosmjerni transport tekuće vlage kroz uzorak i lošiju sposobnost prijenosa tekuće vlage u usporedbi s neobrađenim uzorkom koji ima ocjenu dobar (prema tab. 6.), iako je ukupno poboljšana kvasivost površine (lica) promatrana kroz vrijeme kvašenja kapi koje je značajno kraće kod svih uzoraka nakon provedenih predobrada.



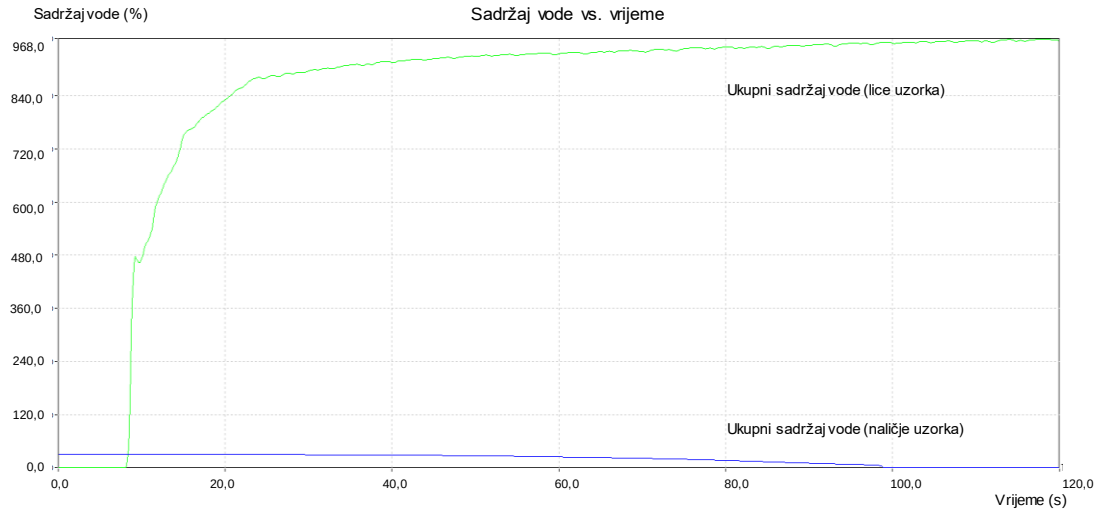
Slika 42. Grafički prikaz ukupnog sadržaja vode u vremenu na licu i naličju uzorka sintetski (Cr free) štavljene kože bez predobrade plazmom



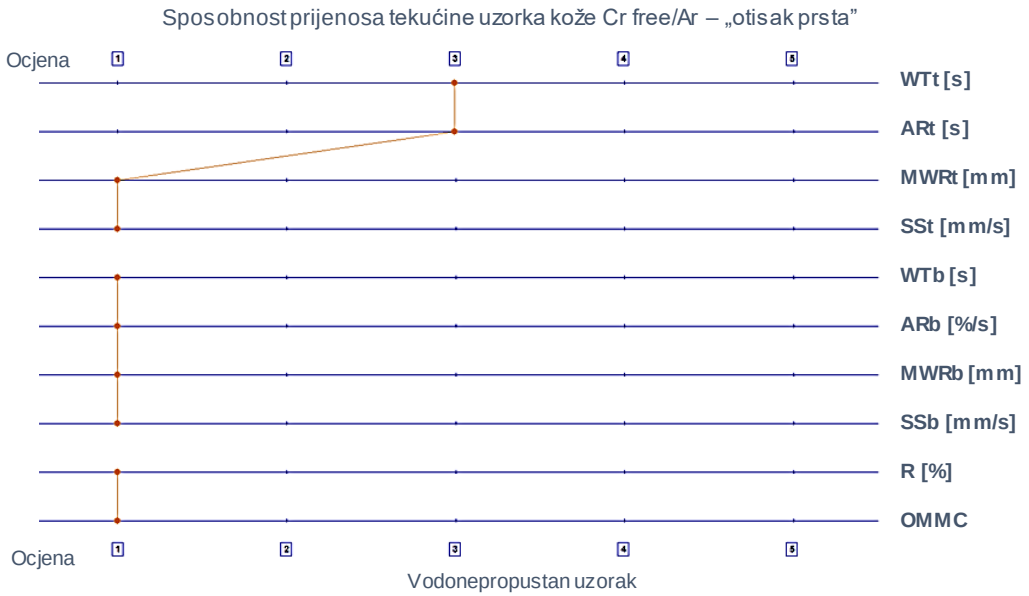
Slika 43. Grafički prikaz sposobnosti prijenosa tekućine kod uzorka sintetski (Cr free) štavljene kože bez predobrade plazmom; tzv. „otisak prsta" (*engl. Finger print*)

Kod uzorka sintetski štavljene kože (grafički prikazi 42. i 43.), dobiveni rezultati pokazuju isti trend ponašanja kao i kod prethodnog uzorka, pri čemu je vrijeme upijanja tekućine s lica značajno kraće nego kod neobrađenog uzorka, međutim vrijeme kvašenja naličja je značajno duže, brzine apsorpcije nula, i manje brzine razlijevanja kapi po naličju uzorka. Dobiveni

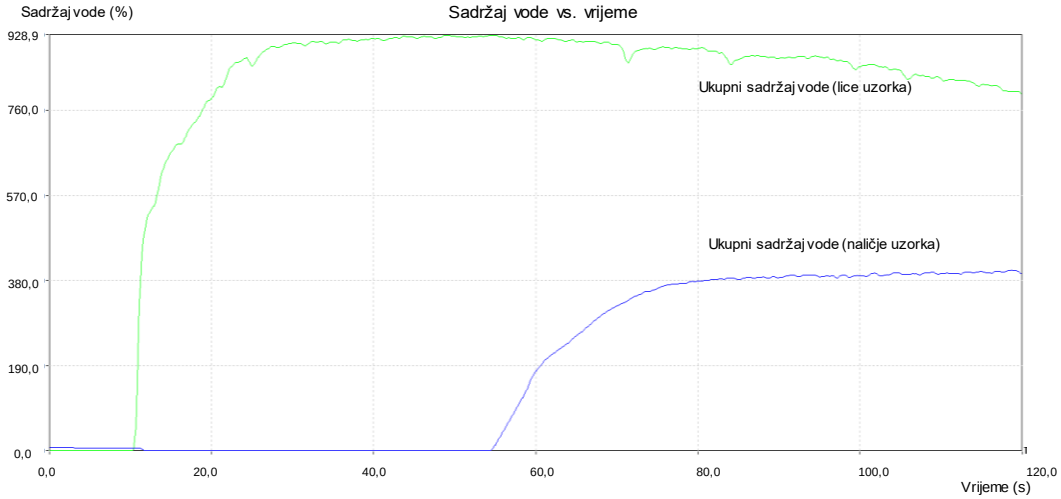
rezultati su u korelaciji s rezultatima ispitivanja propusnosti otopine znoja pri čemu je kod ovog uzorka dobivena veća masa u odnosu na neobrađeni uzorak (tablica 10.). Ovakvi rezultati potvrđuju da je plazma površinska obrada, i s tog aspekta je treba i promatrati.



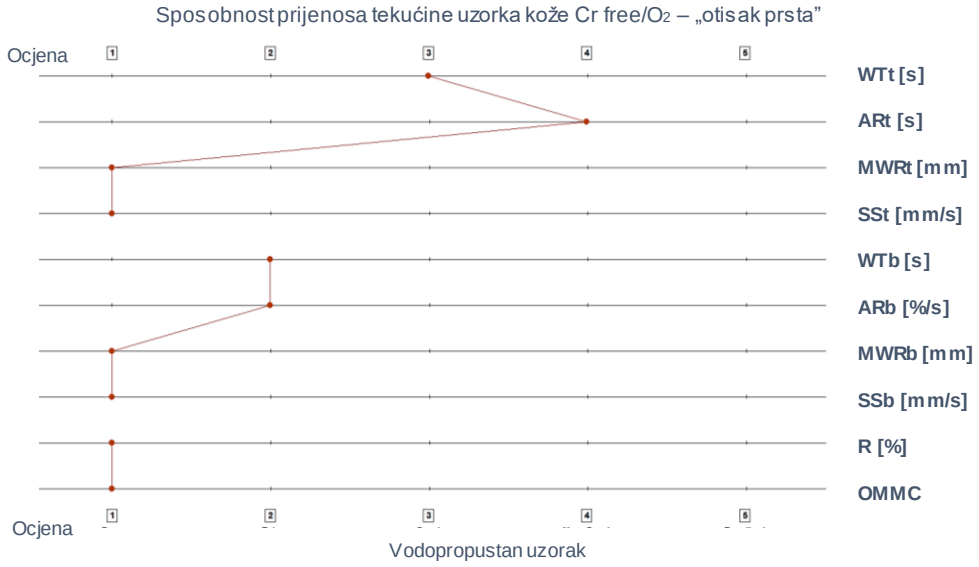
Slika 44. Grafički prikaz ukupnog sadržaja vode u vremenu na licu i naličju uzorka sintetski (Cr free) štavljene kože uz predobradu Ar plazmom



Slika 45. Grafički prikaz sposobnosti prijenosa tekućine kod uzorka sintetski (Cr free) štavljene kože uz predobradu Ar plazmom; tzv. „otisak prsta" (*engl. Finger print*)



Slika 46. Grafički prikaz ukupnog sadržaja vode u vremenu na licu i naličju uzorka sintetski (Cr free) štavljene kože uz predobradu O_2 plazmom

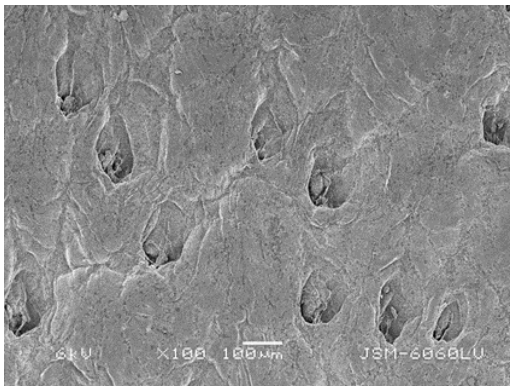


Slika 47. Grafički prikaz sposobnosti prijenosa tekućine kod uzorka sintetski (Cr free) štavljene kože uz predobradu O_2 plazmom; tzv. „otisak prsta" (*engl. Finger print*)

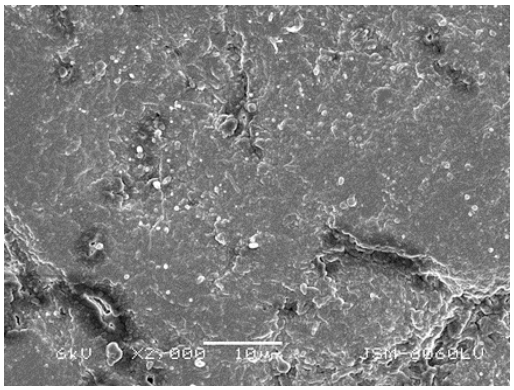
Kao i kod uzorka kromno štavljene kože, slično ponašanje pokazuje i uzorak predobrađen O_2 plazmom sintetski štavljene kože, pri čemu se iz rezultata navedenih u tablici 9. i ukupne ocjene iz grafičkih prikaza sl. 40. i 41. može vidjeti da je vrijeme kvašenja površine gornje površine (lica) uzorka kraće, veća je vrijednost prosječne brzine apsorpcije otopine elektrolita (ocjena 4), dok je vrijeme kvašenja donje površine (naličja) uzorka kraće u odnosu na Ar predobrađeni uzorak. Iz rezultata se vidi da je brzina razlijevanja kapi po licu nakon predobrada plazmom veća od neobrađenog uzorka, dok je na naličju manja, ali ipak nešto viša u usporedbi s uzorkom predobrađenim Ar plazmom. Može se zaključiti da uzorak ipak kvasi i naličje odn. donju površinu iako je ukupna ocjena sposobnosti prijenosa tekuće vlage niska.

6.2. Rezultati analize morfologije uzoraka primjenom SEM mikroskopije

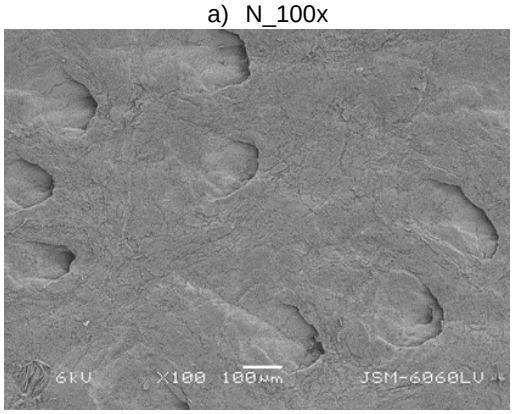
Analiza površine primjenom pretražne elektronske mikroskopije provedena je kako bi se dala što jasnija ocjena o utjecaju plazme na promjene površine ispitivanih uzoraka kože i donijeli zaključci o mogućnostima njene primjene u području obrade površine goveđe kože. Mikroskopske snimke dobivene na JEOL LV-6060 SEM (*FNT, Ljubljana*) uz povećanja 100x i 2000x prikazane su na sl.48.-55.



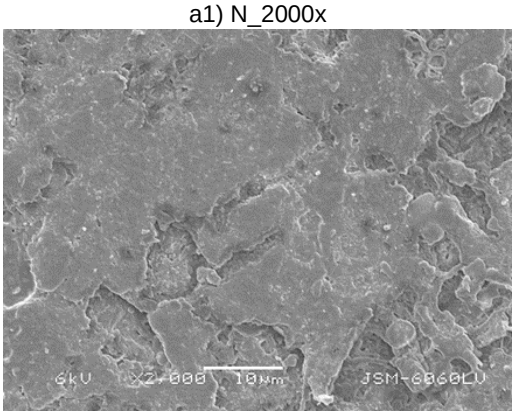
a) N_100x



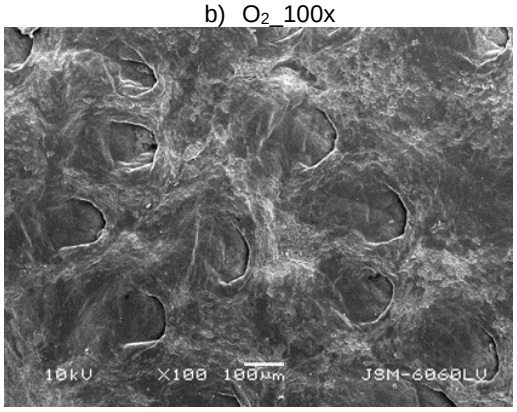
a1) N_2000x



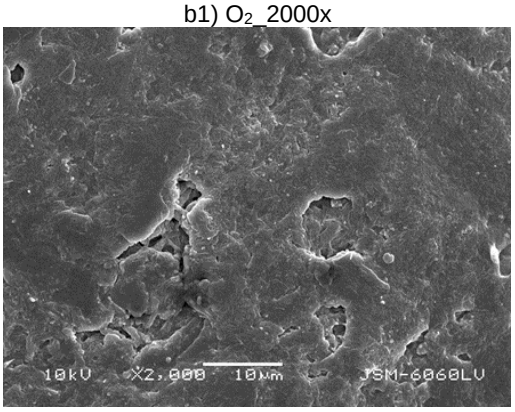
b) O_2_100x



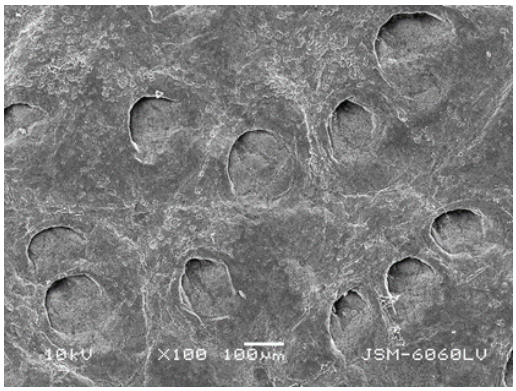
b1) O_2_2000x



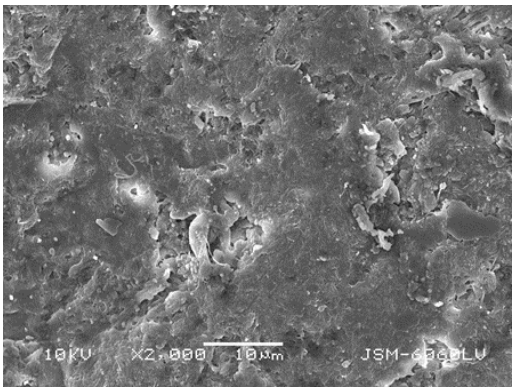
c) O_2/BTCA_100x



c1) O_2/BTCA_2000x



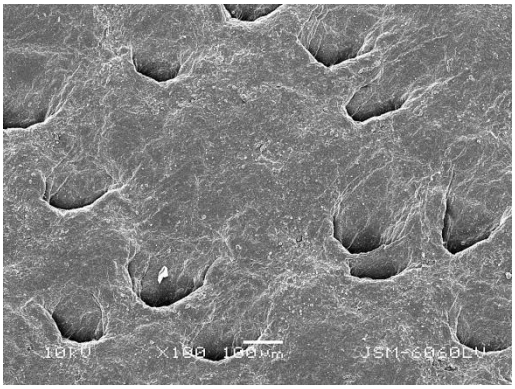
d) O_2/BTCA/CH_100x



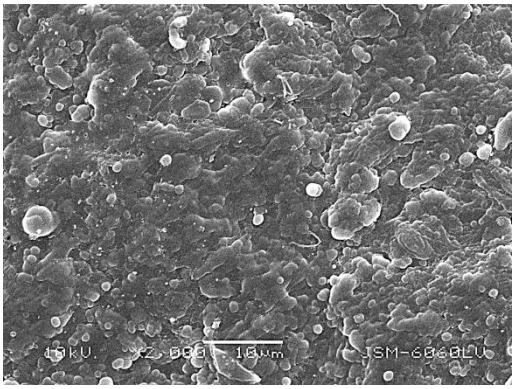
d1) O_2/BTCA/CH_2000x

Slika 48. SEM snimke kromno štavljene kože uz povećanja 100x i 2000x: a) i a1) neobrađeni uzorak; b) i b1) kisikova plazma; c) i c1) obrada O_2/BTCA; d) i d1) obrada O_2/BTCA/CH

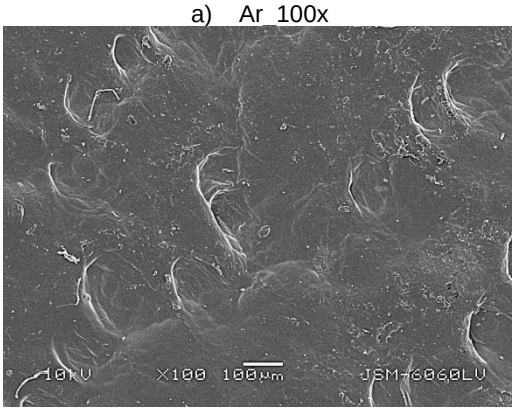
Na temelju dobivenih slika snimljenih elektronskim mikroskopom uočava se karakteristična morfologija površine uzoraka kože s uočljivim folikulama vidljivih pri povećanju od 100x (sl. 48. a-d). Usporedbom snimki površine kože prije i nakon predobrade O_2 plazmom pri povećanju od 2000x uočava se stanovito čišćenje površine uz zaostala površinska „oštećenja“ lica (sl. 48. b1). Nakon obrada polikarboksilnom kiselinom (BTCA) i hitozanom na predobrađenu površinu kisikovom plazmom (sl. 48. c1 i d1), uočeno je lagano zaglađivanje i prekrivanje oštećenih dijelova nanesenim sredstvom što može ukazivati da je došlo do umrežavanja polikarboksilne kiseline na površini uzorka i vezanja hitozana.



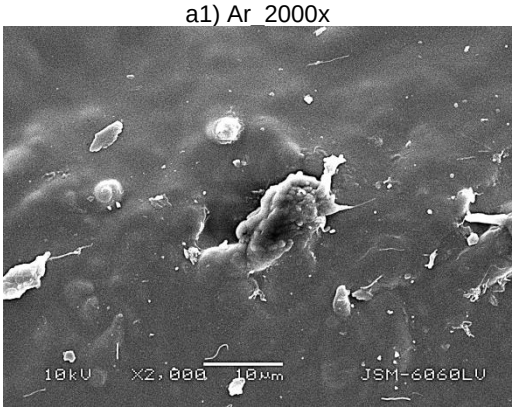
a) Ar_100x



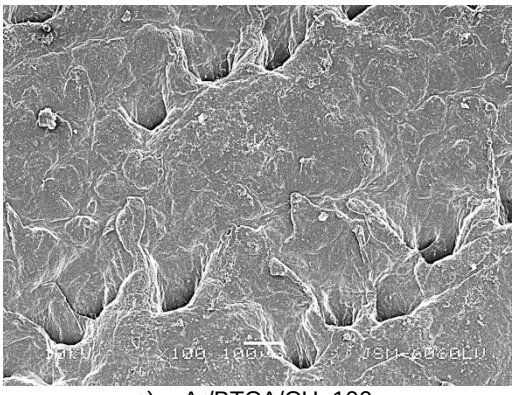
a1) Ar_2000x



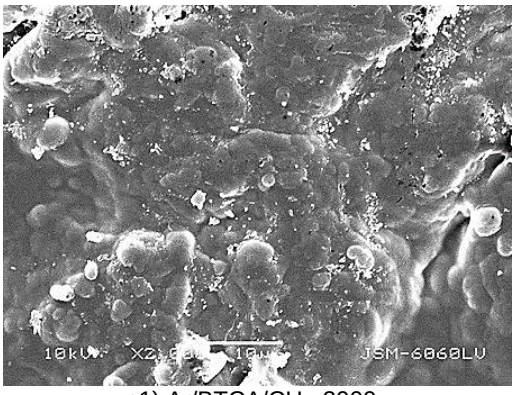
b) Ar/CH_100x



b1) Ar/CH _2000x



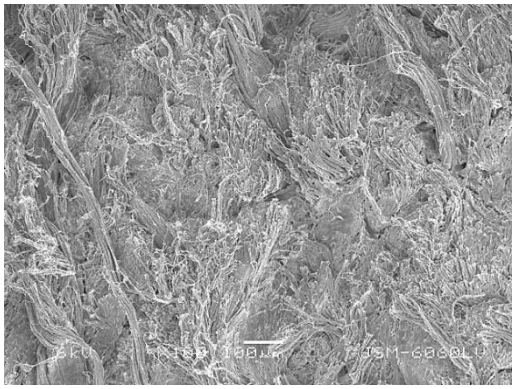
c) Ar/BTCA/CH_100x



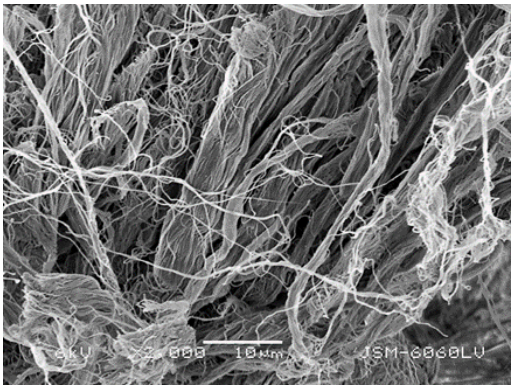
c1) Ar/BTCA/CH _2000x

Slika 49. SEM snimke kromno štavljenog uzorka kože uz povećanja 100x i 2000x: a) i a1) argonova plazma; b) i b1) obrada Ar/CH; c) i c1) obrada Ar/BTCA/CH

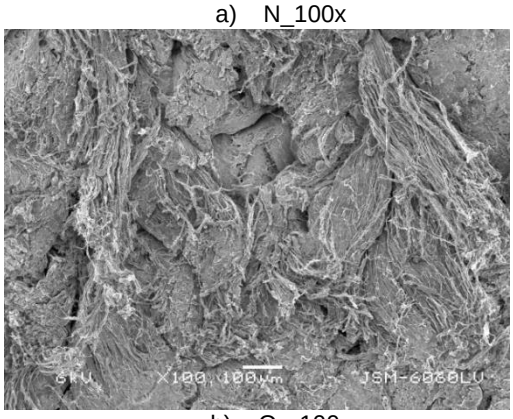
Analizom mikroskopskih snimki kromno štavljenih uzoraka, nakon predobrade argonovom plazmom na površini uzorka su vidljivi granulirani segmenti, a površina uzorka je hrapavija s naglašenijim i otvorenijim folikulima. Obradom hitozanom nakon predobrade Ar plazmom površina postaje glatka te dolazi do zatvaranja folikula (sl. 49. b i b1).Nakon provedene obrade sa BTCA i hitozanom uočava se povećana količina sredstva po površini kože (sl. 49. c1).



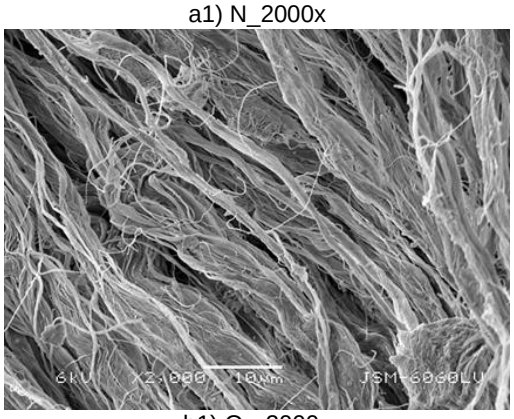
a) N_100x



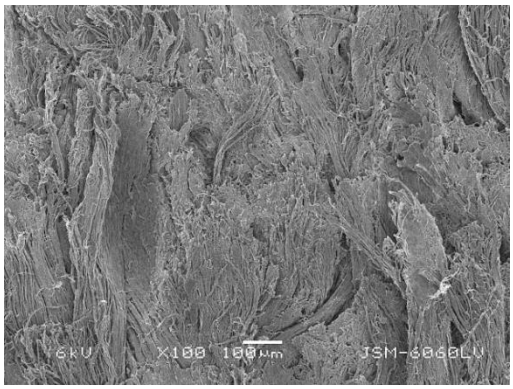
a1) N_2000x



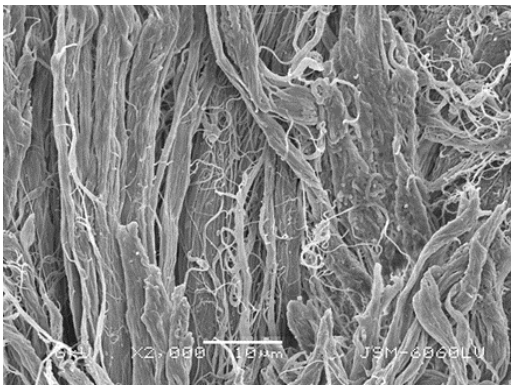
b) O_2_100x



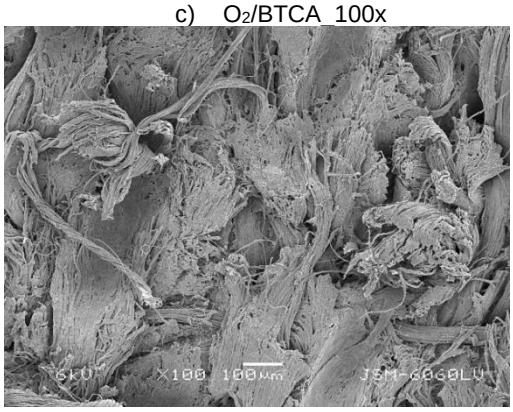
b1) O_2_2000x



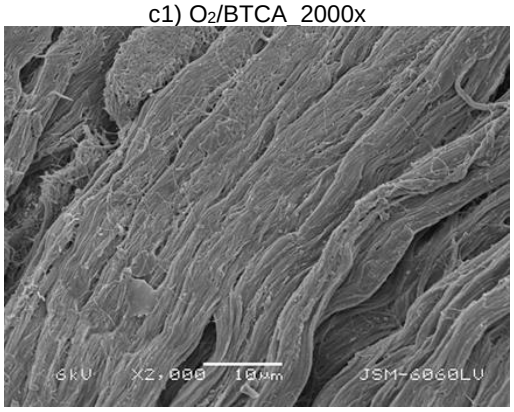
c) O_2/BTCA_100x



c1) O_2/BTCA_2000x

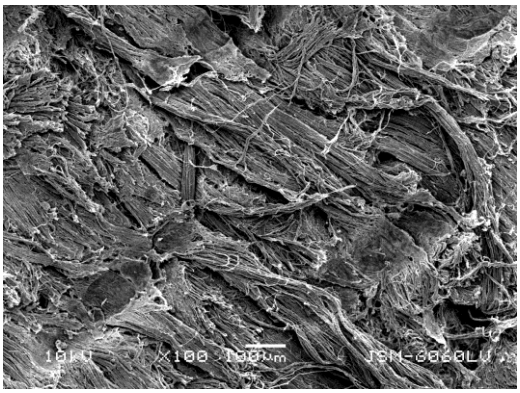


d) O_2/BTCA/CH_100x

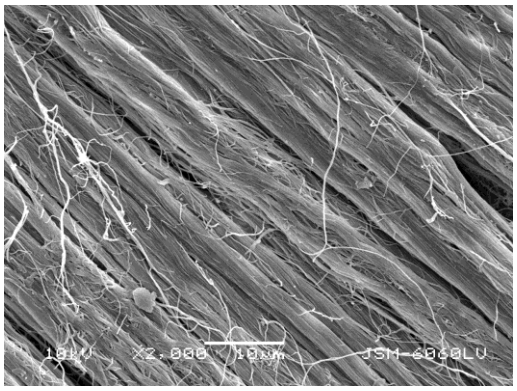


d1) O_2/BTCA/CH_2000x

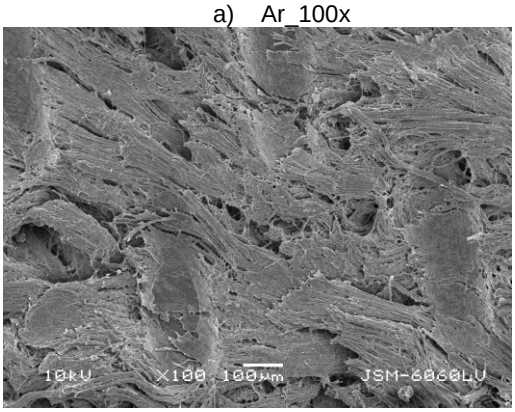
Slika 50. SEM snimke cjepanika(Cr štava)uz povećanja 100x i 2000x: a) i a1) neobrađeni uzorak; b) i b1) kisikova plazma; c) i c1) obrada O_2/BTCA; d) i d1) obrada O_2/BTCA/CH



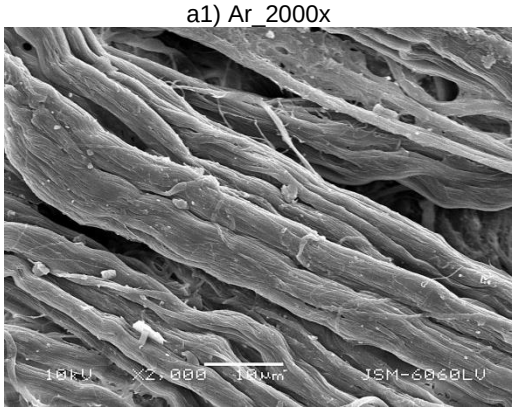
a) Ar_100x



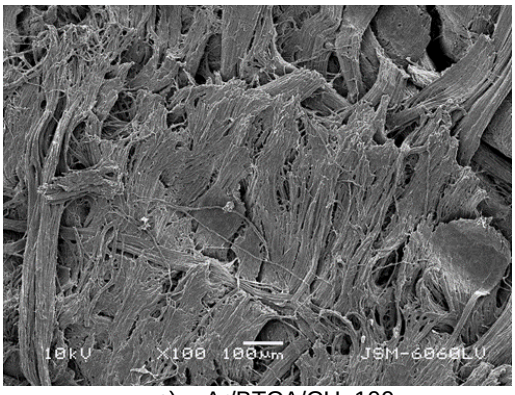
a1) Ar_2000x



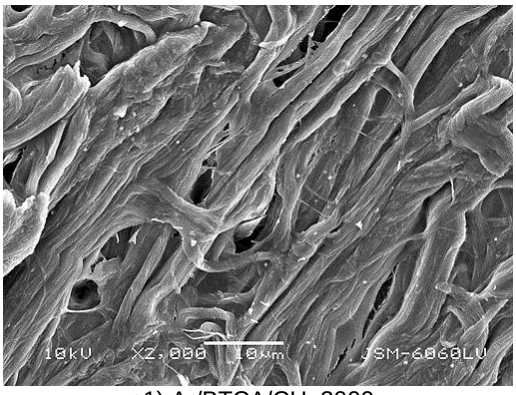
b) Ar/CH_100x



b1) Ar/CH_2000x



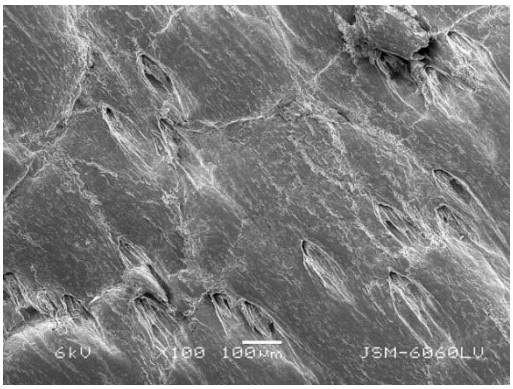
c) Ar/BTCA/CH_100x



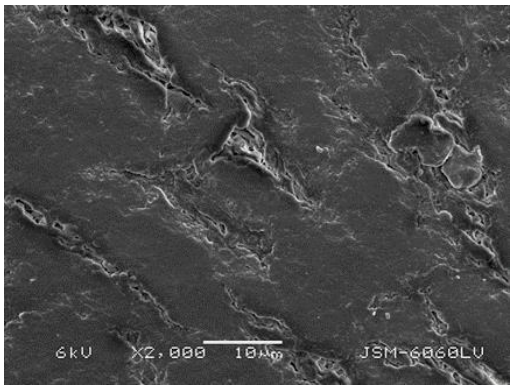
c1) Ar/BTCA/CH_2000x

Slika 51. SEM snimke cjepanika (Cr štava) uz povećanja 100x i 2000x: a) i a1) argonova plazma; b) i b1) obrada Ar/CH; c) i c1) obrada Ar/BTCA/CH

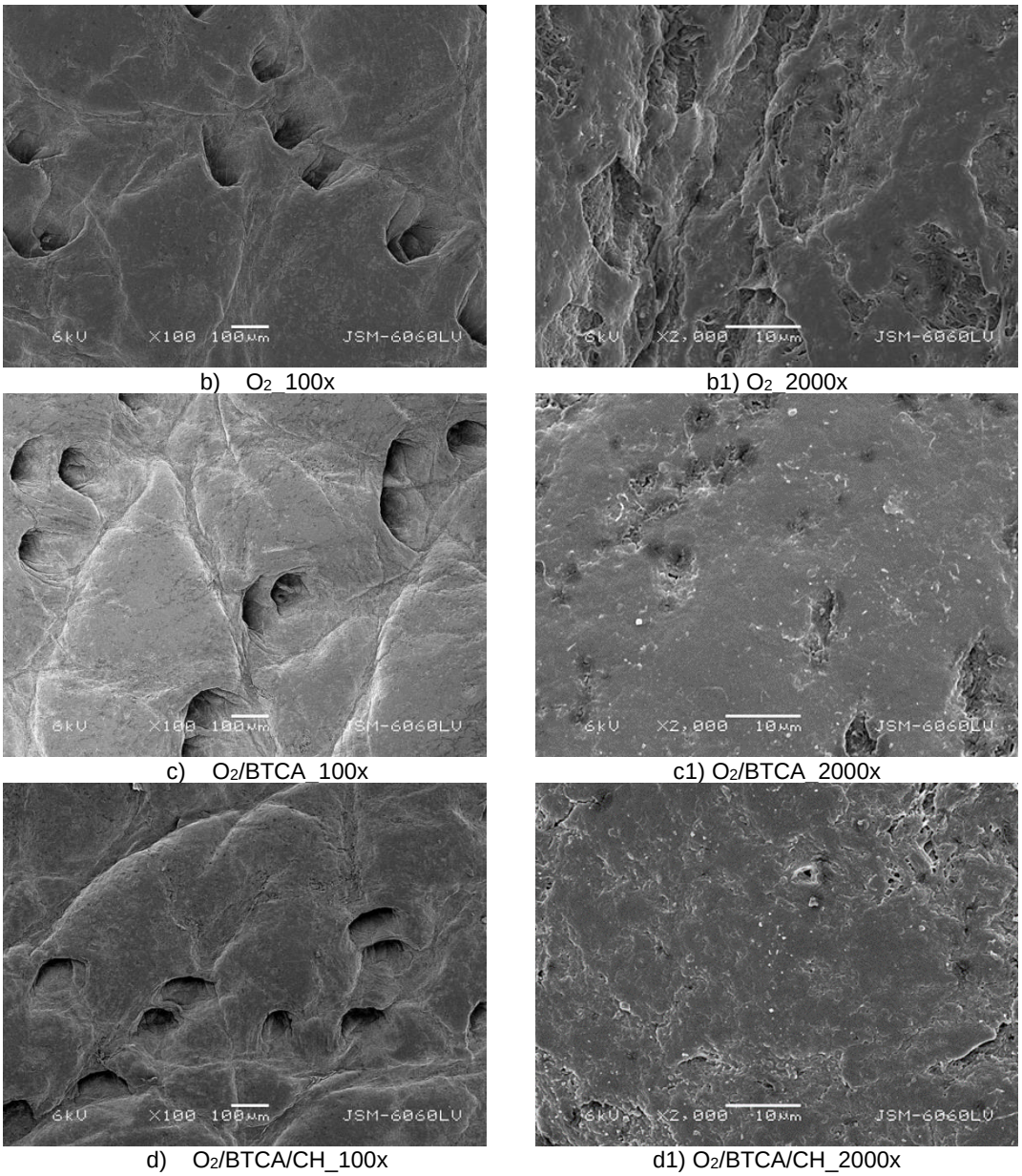
Analizom uzorka kože bez lica - cjepanika koji je kromno štavljen kao i prethodni uzorak, uočava se dio strukture kože, a to su kolagenska vlakna koja su sastavljena od niza fibrila različite finoće. Kolagenska vlakna kod neobrađenog uzorka (sl. 50. a, a1) usmjerena su okomito prema površini kože (licu). Obradama je postignuto svojevrsno sljepljivanje kolagenskih vlakana i njihovo usmjeravanje, što može utjecati na bolju kapilarnost odn. propusnost vode koja lakše prodire s površine u i kroz strukturu. Takva površina/struktura nema lica i ugradnja sredstva (BTCA i hitozana) nije isključivo vezana uz modifikaciju površine, već sredstvo može prodrijeti u dublje dijelove uzorka. Takav učinak može rezultirati izostankom antimikrobnog učinka jer nema direktnog kontakta sredstva s bakterijama. Na sl. 50. (d1) i sl. 51. (b1 i c1) uočava se značajna količina nanesenih sredstava koji je rezultirao dobrim antimikrobnim učinkom (tab.13. i 14.).



a) N_100x



a1) N_2000x



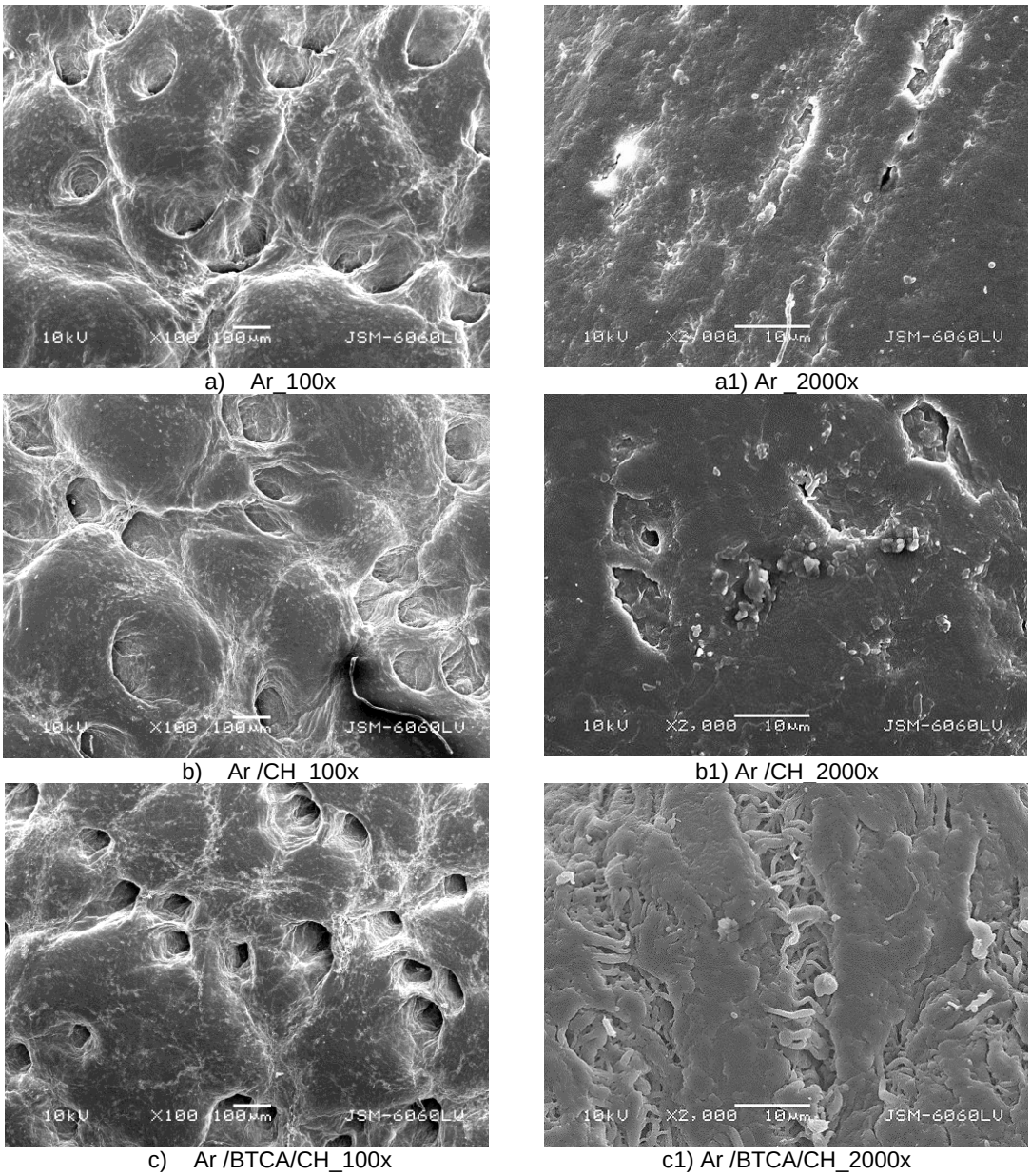
b) O_2_100x b1) O_2_2000x

c) O_2/BTCA_100x c1) O_2/BTCA_2000x

d) O_2/BTCA/CH_100x d1) O_2/BTCA/CH_2000x

Slika 52. SEM snimke sintetski štavljene kože uz povećanja 100x i 2000x: a) i a1) neobrađeni uzorak; b) i b1) kisikova plazma; c) i c1) obrada O_2/BTCA; d) i d1) obrada O_2/BTCA/CH

Analizom površine sintetski štavljenog uzorka, nakon predobrade kisikovom plazmom (sl. 52.) površina uzorka je očišćena od prisutnih nečistoća vidljivih kod neobrađenog uzorka (sl. 52. a1), al i dodatno „oštećenog“ površinskog sloja (lica) ispod kojeg se vide kolagenska vlakna (sl. 52. b1). Dobiveni rezultati su u korelaciji s dobivenim poboljšanim rezultatima hidrofilnosti jer je vrijeme kvašenja uzorka 5 s u odnosu na neobrađeni uzorak kod kojeg se iznosi 41 s. Po provedenim obradama s BTCA i hitozanom površina se zatvara, zaglađuje i prekrivena je vidljivim sadržajem nanesenog sredstva (sl. 52. c1, d1). U prilog ovoj tvrdnji ide i dobar antimikrobni učinak postignut kod svih uzoraka sintetski štavljene kože (tab. 13. i 14.).



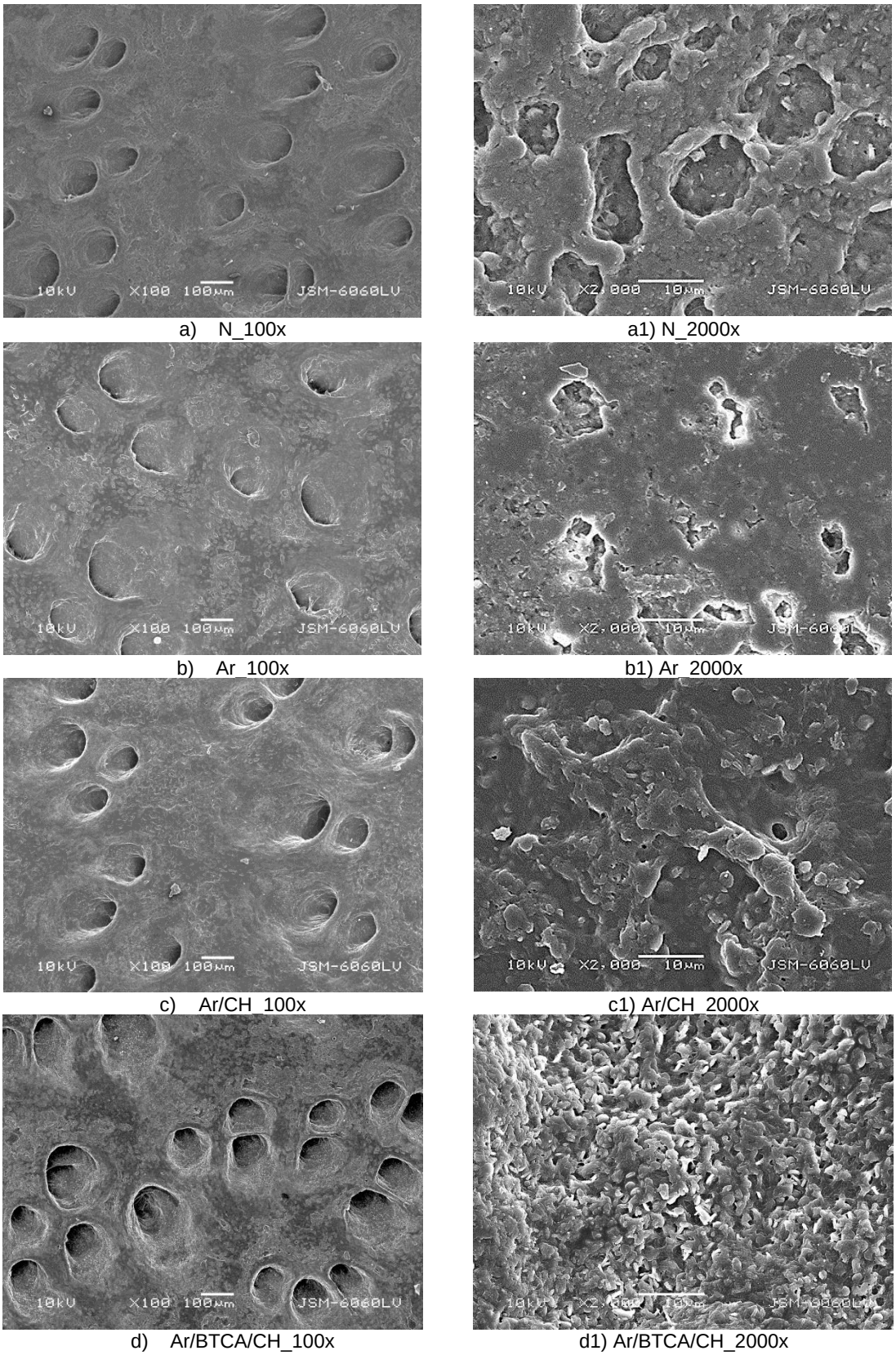
a) Ar_100x a1) Ar _2000x

b) Ar /CH_100x b1) Ar /CH_2000x

c) Ar /BTCA/CH_100x c1) Ar /BTCA/CH_2000x

Slika 53. SEM snimke sintetski štavljene kože uz povećanja 100x i 2000x: a) i a1) argonova plazma; b) i b1) obrada Ar/CH; c) i c1) obrada Ar/BTCA/CH

Mikroskopskom analizom površine sintetski štavljenog uzorka, nakon predobrade argonovom plazmom, površina uzorka je otvorenija uz prisustvo površinskih kratera nastalih uslijed djelovanja argona (sl. 53. b1). Nakon nanosa sredstva za umrežavanje BTCA i hitozana, sredstva su se vezala za kolagenska vlakna uzorka, što je vidljivo pri povećanju od 2000x kod obrade Ar/BTCA/CH_2000x. U prilog tomu je i dobar antimikrobni učinak (tab. 13. i 14.) posebno izražen kod testiranja na *Staphylococcus aureus* gdje zona inhibicije iznosi 2 mm.



a) N_100x a1) N_2000x

b) Ar_100x b1) Ar_2000x

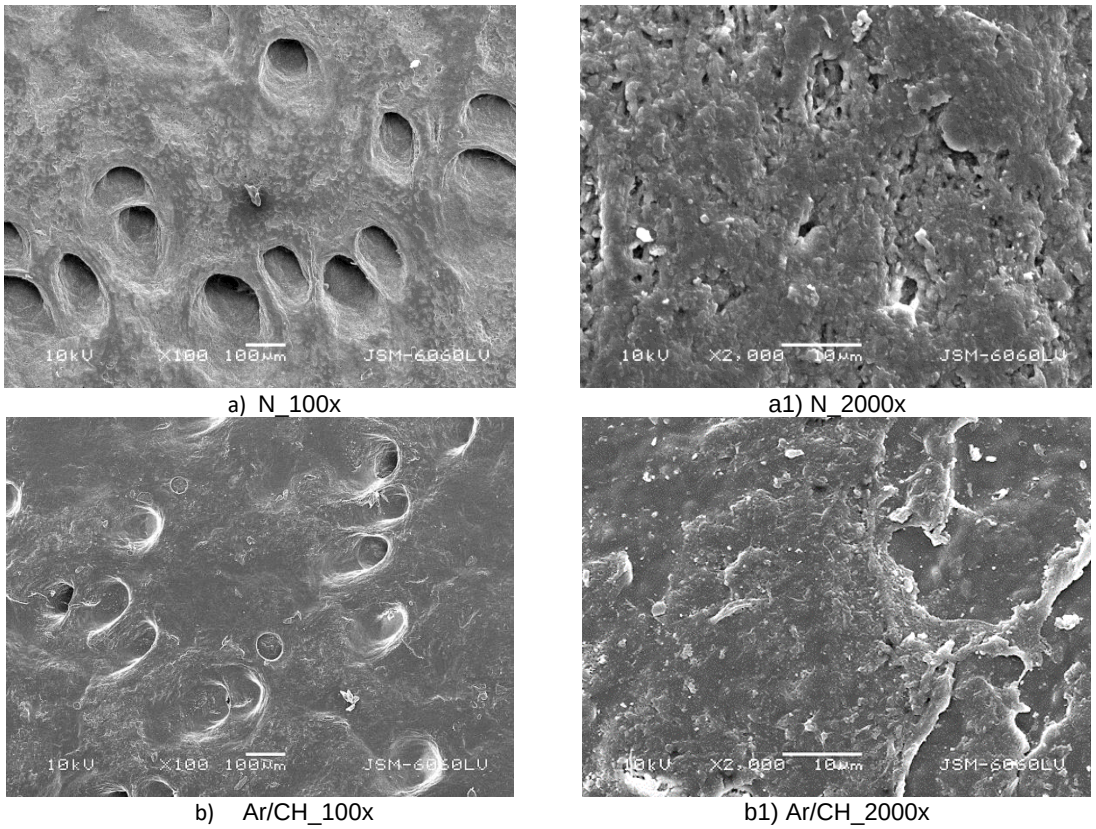
c) Ar/CH_100x c1) Ar/CH_2000x

d) Ar/BTCA/CH_100x d1) Ar/BTCA/CH_2000x

Slika 54. SEM snimke vegetabilno štavljene kože uz povećanja 100x i 2000x: a) i a1) neobrađeni uzorak; b) i b1) kisikova plazma; c) i c1) obrada O_2/BTCA; d) i d1) obrada O_2/BTCA/CH

Mikroskopskom analizom površine vegetabilno štavljenog uzorka, nakon predobrade argonovom plazmom površina uzorka je čišća i zaglađenja u odnosu na neobrađeni uzorak

koji ima dosta površinskih nečistoća (sl. 54. a1). Nakon provedenih obrada s BTCA i hitozanom, vidljivo je prisustvo sredstva, kojim je površina potpuno prekrivena (sl. 54.c1 i d1), međutim uz izuzetnu antimikrobnu aktivnost koju je pokazao već i neobrađeni uzorak teško je dati zaključke o utjecaju provedenih obrada, usljed kojih učinak nije pogoršan već je i dalje odličan (tab. 13. zona inhibicije 5 mm).



a) N_100x a1) N_2000x

b) Ar/CH_100x b1) Ar/CH_2000x

Slika 55. SEM snimke vegetabilno štavljene kože nakon močenja u alkalnoj otopini znoja, uz povećanja 100x i 2000x: a) i a1) neobrađeni uzorak; b) i b1) obrada Ar/CH

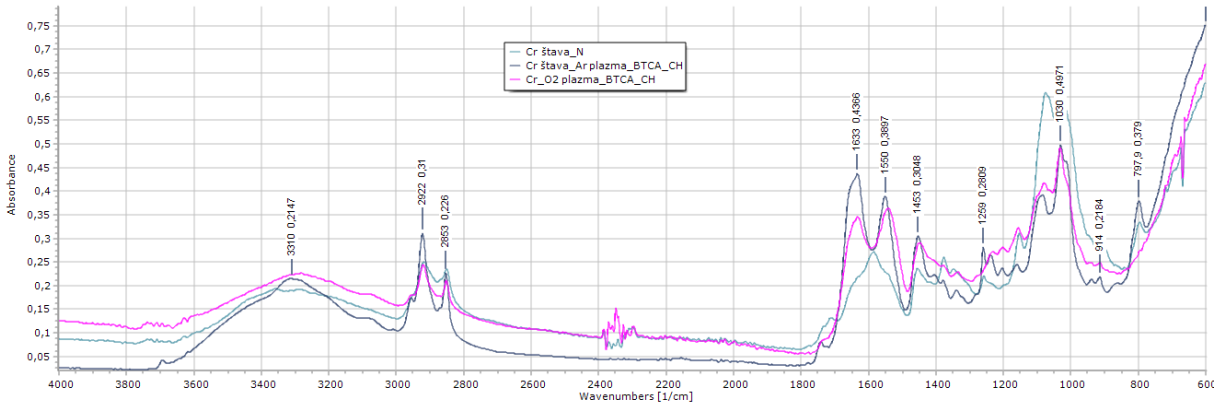
Usporedbom mikroskopskih snimki vegetabilno štavljenih uzoraka prije i nakon postupka močenja (sl. 54 a1 i sl. 55. a1), uočava se hrapavost površine uzorka koja je nakon predobrade argonovom plazmom djelomično smanjena. Kada se uporede mikroskopske snimke uzoraka prije i nakon močenja predobrađenih s argonovom plazmom i obrađenih sa hitozanom (sl 54. c1 i sl. 55. b1) na površini nakon močenja sredstvo ravnomjernije prekriva površinu uzorka.

6.3. Rezultati FTIR-ATR analize funkcionalnih skupina

FTIR-ATR spektri različito štavljenih uzoraka prikazani su na sl.56.-59. Analizirana je kemijska struktura površine neobrađenih i obrađenih uzoraka tj. prisutnost karakterističnih valnih vrpci (pikova) koji odgovaraju funkcionalnim skupinama. Radi bolje usporedbe, na svakom su grafu prikazani spektri neobrađenih uzoraka i spektri uzoraka nakon obrada s plazmom/BTCA i hitozanom u spektralnom području srednjeg IR spektra od 4000 cm^{-1} do 600 cm^{-1}. Na

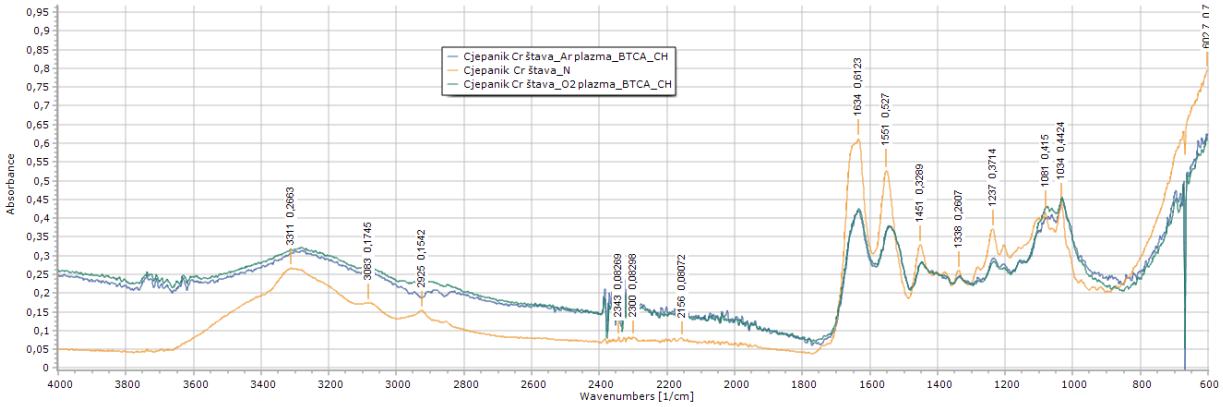
spektrima su označene apsorpcijske vrpce u spektralnom području pri karakterističnim valnim brojevima za prirodnu kožu, gdje 3311 cm^{-1} predstavlja rastezne vibracije –NH skupina aminokiselina, 2925 cm^{-1} –CH asimetrične deformacijske vibracije, 1634 cm^{-1} rastezne vibracije –C=O skupine, 1551 cm^{-1} $–NH_2$ uvijanje povezano sa –CN rasteznim vibracijama koje čini amidnu skupinu (označen kao amid II), vrpce pri 1452 cm^{-1} i 1338 cm^{-1} $–CH_2$ deformacijske vibracije, a 1237 cm^{-1} označuje savijanje –NH amida III, dok apsorpcijska vrpca pri 1650 cm^{-1} predstavlja α-uzvojnicu, dok pojavljivanje vrpce pri 1626 cm^{-1} predstavlja ß – oblik. Apsorpcijski pikovi pri 1081 cm^{-1} i 668 cm^{-1} predstavljaju rastezne vibracije skeleta.

Utjecaj kroma na kožu može se detektirati pri karakterističnoj apsorpcijskoj vrpci 1634 cm^{-1} koja označuje mogući interakciju kroma s proteinom (–Cr–OOC–).Taj pik je pomaknut od 1650 cm^{-1} koji odgovara –C=O rasteznim vibracijama od –COOH, kao amida I. Isto tako vrpca pri 1558 cm^{-1} (amid II) dodijeljena je interakciji kroma s amino grupama (–Cr–NH –) koji je pomaknut s 1552 cm−1 i smanjenog je intenziteta [77].



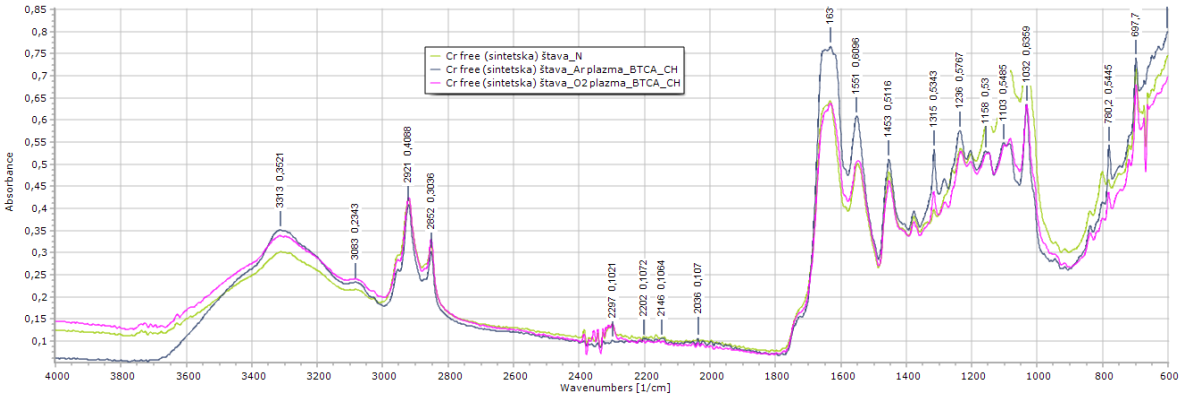
Slika 56. Apsorpcijski FTIR spektri kromno štavljenog uzorka prije i nakon obrade s O_2 ili Ar/BTCA/CH

Usporedbom prikazanih spektara na sl. 56. uočava se intenzivnost apsorpcijskih vrpci obrađenih uzoraka u odnosu na neobrađeni pri 2922 cm^{-1}, 1633 cm^{-1}, 1550 cm^{-1}, 1453 cm^{-1} te 797 cm^{-1} koji ukazuju da se intenzivne vibracije događaju na –NH, $-NH_2$, –CH, $–CH_2$ skupinama te –C=O skupinama, a koje pokazuju da je vrlo vjerojatno došlo do vezivanja polikarboksilne kiseline (BTCA) i hitozana za površinu supstrata. Uočava se prisutstvo apsorpcijskih pikova obrađenih uzoraka pri 1633 cm^{-1} i 1550 cm^{-1} kojih nema kod neobrađenog uzorka, a koji odgovaraju –C=O i $–NH_2$ skupinama te koje mogu ukazivati na vezivanje hitozana na površinu supstrata. Prisutno je i smanjenje intenziteta apsorpcijskog pika pri 1030 cm^{-1} koje ukazuju na smanjene rastezne vibracije na –C=O skupina [75-78].



Slika 57. Apsorpcijski FTIR spektri cjepanika prije i nakon obrade s O_2 ili Ar/BTCA/CH

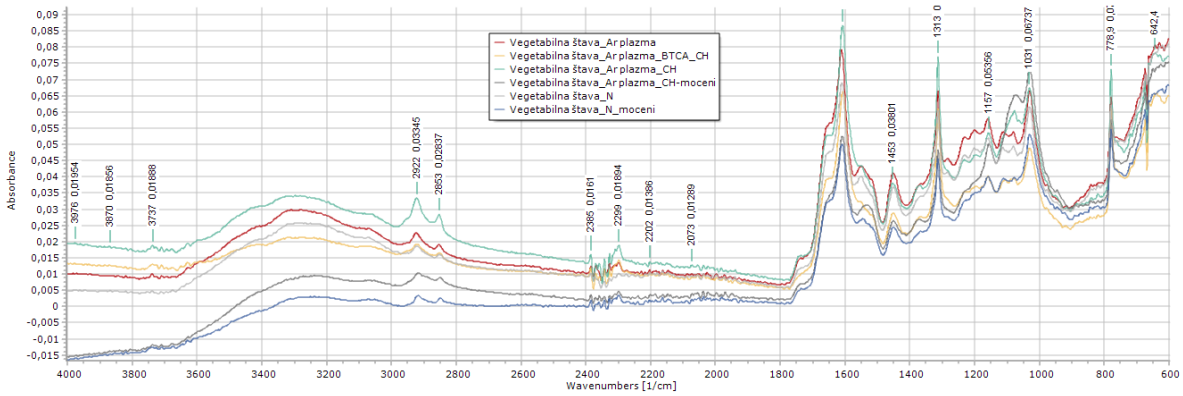
Kod kromno štavljenog uzorka cjepanika apsorpcijske vrpce u promatranom području su iste kao i kod prethodnog uzorka s obzirom da su štavljena kromom. Iz prikazanog spektra (sl. 57.) je vidljivo da nije uočena pojava novih apsorpcijskih vrsta, već je došlo do promjena njihovog intenziteta. Veća intenzivnost apsorpcijskih vrpci je izražena pri valnim brojevima 3311 cm^{-1}, 3083 cm^{-1}, 2925 cm^{-1}, 1081 cm^{-1} te 1034 cm^{-1} što ukazuje da se intenzivne vibracije događaju na –NH i –CH skupinama te –C=O skupinama. Uočava se intenzitet apsorpcijske vrpce pri 1081 cm^{-1} koji odgovara –C=O skupini, što ukazuje na vezivanje hitozana na površinu supstrata te je ta intenzivnost izraženija kod predobrade s kisikovom plazmom [75-77].



Slika 58. Apsorpcijski FTIR spektri sintetski štavljenog uzorka prije i nakon obrade s O_2 ili Ar/BTCA/CH

FTIR-ATR spektar sintetski štavljenog uzorka (sl. 58.) ima označene apsorpcijske vrpce u spektralnom području pri karakterističnim valnim brojevima gdje pri 3311 cm^{-1} i 3083 cm^{-1} označuju rastezne vibracije –NH skupina aminokiselina, 2921 cm^{-1} –CH asimetrične deformacijske vibracije, 1630 cm^{-1} rastezne vibracije –C=O skupine. Veća intenzivnost apsorpcijskih vrpci obrađenih uzoraka je izražena pri valnim brojevima 2921 cm^{-1} za –CH skupine, 2852 cm^{-1} $–CH_2$ skupine, 1630 cm^{-1} za –C=O skupine, 1551 cm^{-1} za $–NH_2$ deformacijske vibracije, 1315 cm^{-1} za –COC– rastezne vibracije, 1236 cm^{-1} za –C=O skupine te 780 cm^{-1} za aromatske –CH skupine. Intenzivnost apsorpcijskih vrpci uzorka obrađenog

argonovom plazmom, s BTCA i hitozanom je veća pri 1630 cm^{-1}, 1551 cm^{-1} te 780 cm^{-1} što može ukazivati na bolje vezivanje hitozana i BTCA na supstrat nakon predobrade argonovom plazmom. Smanjena je intenzivnost apsorpcijskih vrpci pri valnim brojevima 1158 cm^{-1}, 1103 cm^{-1} te 1032 cm^{-1} koje ukazuju na smanjene vibracije na –C=O, te –CH skupinama [75-77].



Slika 59. Apsorpcijski FTIR spektri vegetabilno štavljenog uzorka prije i nakon različitih obrada

Prema literaturi [75-79], svi tanini imaju intenzivne vrpce u području između 3600 cm^{-1} i 3400 cm^{-1} zbog rasteznih vibracija –OH te se najbolji podaci dobivaju u području od 1850 cm^{-1} do 700 cm^{-1}. Na spektru (sl. 59.) su prisutne apsorpcijske vrpce koje označuju skupine tanina pri 1610 cm^{-1} i 1453 cm^{-1} za rastezne vibracije aromatskih amina i 1031 cm^{-1} za C–O rastezne vibracije. Veća intenzivnost apsorpcijskih vrpci je izražena pri valnim brojevima 2922 cm^{-1}, 2853 cm^{-1}, 1453 cm^{-1}, 1313 cm^{-1}, 1157 cm^{-1} te 1031 cm^{-1} što ukazuje da se deformacije događaju pri ≡CH skupinama, ν(C=C), δ(C–H), $\delta(CH_3)$, $\delta(CH_2)$ vezama te rastezne vibracije aromatskih amina pri 1610 cm^{-1}. Spektri pokazuju da su intenziteti apsorpcijskih vrpci močenog uzorka prije i nakon obrade s Ar/CH slabijeg intenziteta, što može ukazivati da je došlo uklanjanja suviška tanina obradom uzorka (močenjem) u alkalnom otopinom znoja.

6.4. Rezultati ispitivanja propusnosti znoja

Ispitivanje propusnosti alkalne otopine znoja provedeno je na uzorcima prije i nakon predobrada kisikovom i argonovom plazmom u vremenu od 8 sati pri 37°C. Postupak se temelji na određivanju mase uzorka prije i nakon izlaganja otopini znoja pri čemu se rezultat iskazuje kao postotna promjena mase uzorka, iskazana u postocima. Pored mase, potrebno je zabilježiti promjenu u volumenu otopine na temelju kojega se može izračunati postotna promjena volumena iz koje se može zaključiti o propusnosti uzorka. Razlika od početnog volumena i preostalog volumena predstavlja udio propuštene otopine znoja koja je prošla kroz uzorak u okolinu. Na taj način se može pratiti utjecaj promjena strukture površine uzorka kože do koje dolazi usljed predobrada plazmom, u odnosu na neobrađeni uzorak. Rezultati su prikazani u tab. 10. i na sl. 60.

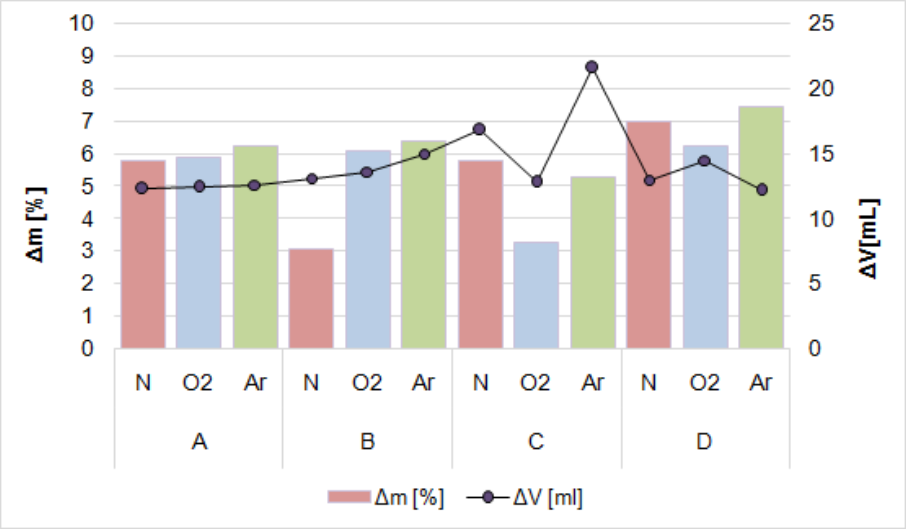
Tablica 10. Rezultati određivanja propusnosti znoja neobrađenih i obrađenih uzoraka

oznaka uzorka - opis		m_1 [g]	m_2 [g]	Δm [%]	P_{OZ8h} [g]	V_{8h} [ml]	ΔV[%]
kromno štavljeni uzorak	neobrađeni	7,7274	8,1749	5,7	0,4475	27,7	-30,75
	O_2 plazma	7,8654	8,3295	5,9	0,4641	27,6	-31,00
	Ar plazma	7,8903	8,3814	6,2	0,4911	27,4	-31,50
kromno štavljeni (cjepanik)	neobrađeni	6,7249	6,9309	3,0	0,2060	26,9	-32,75
	O_2 plazma	6,7190	7,1283	6,0	0,4093	26,4	-34,00
	Ar plazma	6,1415	6,5336	6,3	0,3921	25,0	-37,50
vegetabilno štavljeni uzorak	neobrađeni	12,0189	12,7113	5,7	0,6924	23,2	-42,00
	O_2 plazma	13,7364	14,1882	3,2	0,4518	27,2	-32,00
	Ar plazma	12,4695	13,1310	5,3	0,6615	19,4	-51,50
sintetski štavljeni uzorak	neobrađeni	7,8492	8,3978	6,9	0,5486	27,0	-32,50
	O_2 plazma	7,6025	8,0754	6,2	0,4729	25,5	-36,25
	Ar plazma	8,0824	8,6827	7,4	0,6003	27,8	-30,50

m_1- masa uzorka nakon predobrade plazmom (g); m_2- masa uzorka nakon obrade otopinom znoja (g); Δm - postotna promjena mase (%); P_{OZ8h} (m_2 - m_1)- propusnost otopine znoja kroz uzorak nakon 8h izlaganja (g); V_{8h} - volumen otopine znoja nakon izlaganja uzorka (ml); ΔV [%]- postotna promjena volumena otopine znoja nakon izlaganja uzorka.Početni volumen otopine znoja V_0 (ml) = 40 ml.

Na temelju prikazanih rezultata u tab. 10. može se zaključiti da se masa kod gotovo svih uzoraka kože po završetku izlaganja otopini znoja u vremenu od 8 h povećava, što se očituje u većoj postotnoj promjeni mase,ali i istodobnoj većoj propusnosti otopine znoja kroz uzorak u odnosu na neobrađeni uzorak. Uočava se trend porasta sposobnosti apsorpcije otopine znoja uzoraka predobrađenih argonovom plazmom. Kod kromno štavljenih uzorka, pored porasta mase, uočava se i veća propusnost znoja nakon provedenih predobrada. Takvo ponašanje navodi na zaključak da se površinska struktura kože otvara predobradama plazmom. Ovakvi rezultati su u korelaciji s rezultatima ispitivanja vremena upijanja kapi vode

provedeni testom kapi, ali i analizom površine gdje dolazi do promjena nakon predobrade plazmom u vidu povećane hidrofilnosti.



A - kromno štavljeni uzorak, B – kromno štavljeni uzorka cjepanik, C – vegetabilno štavljeni uzorak, D – sintetski štavljeni uzorak

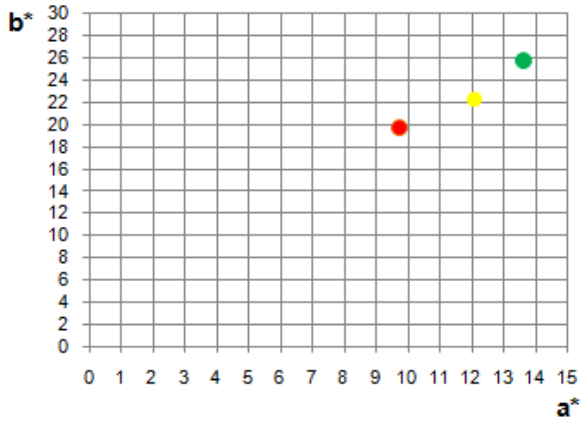
Slika 60. Postotna promjena mase, Δm [%] i promjena volumena, ΔV [ml] otopine znoja nakon izlaganja uzoraka u vremenu od 8h, u odnosu na početni volumen

6.5. Rezultati određivanja obojenosti vegetabilno štavljenih uzoraka nakon močenja

Za utvrđivanje promjena obojenja vegetabilno štavljene kože, uzorak je podvrgnut močenju u alkalnoj otopini znoja kako bi se izlučio višak tanina i netaninskih tvari koje zbog velike količine unutar stukture kože ima snažan antimikrobni učinak (tab.13.), stoga kod tog uzorka nisu provedene iste obrade kao kod drugih ispitivanih uzoraka kože. Remisijskim spektrofotometrom provedeno je mjerenje koloristićkih parametara obojenosti uzoraka prije i nakon procesa močenja, te uzorka nakon obrade argonom i hitozanom (Ar/CH), a rezulatti su prikazani u tab. 11. i na grafičkom prikazu sl. 61. Izračunata je ukupna promjena obojenja dE i promjene koordinata boje, svjetline, zasićenosi i tona u odnosu na standard, a rezultati su prikazani u tab. 12. i na grafičkom prikazu sl. 62.

Tablica 11. Koloristički parametri snimljenog vegetabilnog uzorka kože

Opis uzorka	L*	a*	b*	C*	h*	X	Y	Z	x	y
Neobrađeni uzorak	56,09	12,06	22,38	25,42	61,68	25,5	24	14,2	0,4004	0,3767
Uzorak nakon močenja	55,56	13,68	25,66	29,08	61,94	25,36	23,48	12,52	0,4132	0,3827
Obrada Ar/CH	60,03	9,77	19,67	21,96	63,58	29,15	28,16	18,55	0,3834	0,3711

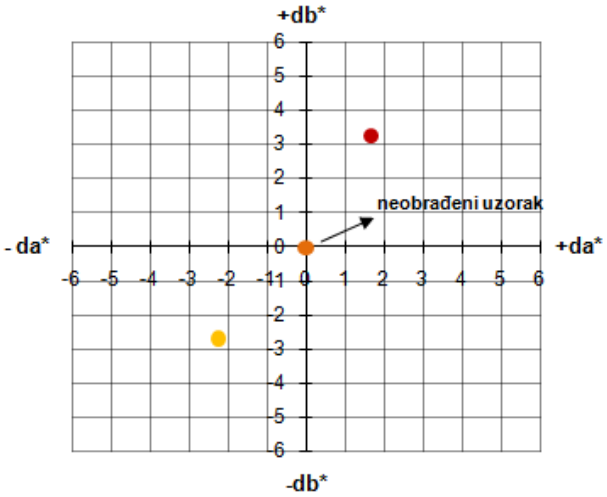


Slika 61. Prikaz koordinata boja (a*/b*) uzoraka

Primjenom remisijskog spektrofotometra određeni su koloristički parametri boje vegetabilno štavljenog prije i nakon izlaganja (močenja) alkalnoj otopini znoja, a potom i obrađenog Ar plazmom i hitozanom. U tablici 12. su vidljive promjene svjetline (dL*) uzoraka te je najintenzivnija promjena kod obrađenog uzorka nakon močenja. Štavljenje vegetabilnim štavilima uzorcima koža daje karakterističnо smeđe obojenje uzorku, a s obzirom da se tanini kao i druge netaninske tvari dodaju u suvišku tijekom procesa štavljenja, oni pokazuju izrazitu antimikrobnu aktivnost. S obzirom na koordinate boja a*/b*, uzorci su smješteni između crvene koordinate a* i žute koordinate b*, što znači da su narančastog tona. Parametar kromatičnosti C* govori o zasićenosti boje, koja je jasno vidljiva kod neobrađenog, ali močenog uzorka.

Tablica 12. Razlike u boji močenog uzorka i obrađenog uzorka u odnosu na uzorak prije močenja

Opis uzorka	DE*	DL*	Da*	Db*	DC*	Dh*
Uzorak nakon močenja	3,691	-0,521	1,619	3,276	3,652	0,121
Obrada uzorkaAr/CH	5,305	3,944	-2,287	-2,712	-3,46	0,782



Slika 62. Prikaz razlika u obojenjima obrađenih uzoraka naspram standarda u da*/db* dijagramu

Remisijskim spektrofotometrom određene su i razlike u obojenju močenog vegetabilno štavljenog uzorka prije i nakon obrade u odnosu na neobrađeni (nemočeni) uzorak (sl. 62.). Parametar koji daje uvid u promjenu obojenja je ukupna razlika u boji DE*, te se prema dobivenim vrijednostima primjećuju razlike u obojenjima uzoraka prije i nakon močenja, a te su razlike najizraženije kod močenog predobrađenog uzorka (Ar/CH). Prema da*/db* dijagramu, neobrađeni močeni uzorak je u odnosu na neobrađeni uzorak prije močenja tamniji, crveniji i žući, a močeni i Ar/CH obrađeni uzorak je svjetliji s manje izraženim crvenim i žutim tonom, što je posljedica uklanjanja tanina koji daju specifičnu narančastu boju uzorcima.

6.6. Rezultati određivanja antimikrobne učinkovitosti uzoraka kože

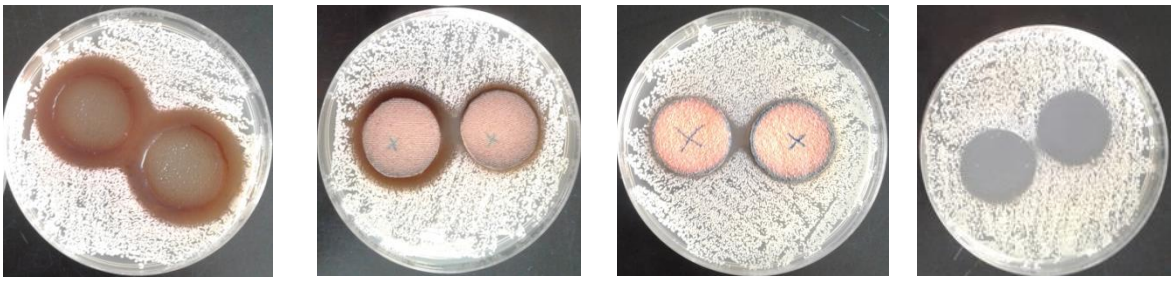
Rezultati određivanja antimikrobne učinkovitosti neobrađenih i predobrađenih uzoraka koža spram bakterijskih vrsta *Staphylococcus aureus* i *Klebsiella pneumoniae* prikazani su u tablicama 13. i 14.

Tablica 13. Rezultati određivanja antimikrobne učinkovitosti uzoraka kože spram gram pozitivne bakterije *Staphylococcus aureus*

Oznaka uzorka - obrada		H [mm]	Rast bakterija/ Opis	Procjena
Staphylococcus aureus				
kromno štavljeni	N	0	blagi: nema zone inhibicije, ograničene kolonije, rast je gotovo potpuno reduciran	ograničena učinkovitost
	N/CH	0	nema rasta: nema zone inhibicije	dobar učinak
	O_2/BTCA	1	nema rasta: zona inhibicije jasno vidljiva	dobar učinak
	O_2/BTCA/CH	0	nema rasta: nema zone inhibicije	dobar učinak
	Ar/CH	0	blagi: nema zone inhibicije, ograničene kolonije, rast je gotovo potpuno reduciran	ograničena učinkovitost
	Ar/BTCA/CH	0	blagi: nema zone inhibicije, ograničene kolonije, rast je gotovo potpuno reduciran	ograničena učinkovitost
cjepanik	N	0	blagi: nema zone inhibicije, ograničene kolonije, rast je gotovo potpuno reduciran	ograničena učinkovitost
	N/CH	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	O_2/BTCA	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	O_2/BTCA/CH	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	Ar/CH	0	nema rasta:nema zone inhibicije	dobar učinak
	Ar/BTCA/CH	0	nema rasta:nema zone inhibicije	dobar učinak
vegetabilno štavljeni	N	5	nema rasta: zona inhibicije jasno vidljiva	dobar učinak
	Ar/CH	4,5	nema rasta: zona inhibicije jasno vidljiva	dobar učinak
	Ar/BTCA/CH	5	nema rasta: zona inhibicije jasno vidljiva	dobar učinak
	N (močen)	7,5	nema rasta: zona inhibicije jasno vidljiva	dobar učinak
	močen Ar/CH	3,5	nema rasta: zona inhibicije jasno vidljiva	dobar učinak
sintetski štavljeni	N	1	nema rasta: zona inhibicije jasno vidljiva	dobar učinak
	N/CH	1	nema rasta: zona inhibicije jasno vidljiva	dobar učinak

	O_2/BTCA	1	nema rasta: zona inhibicije jasno vidljiva	dobar učinak
	O_2/BTCA/CH	1	nema rasta: zona inhibicije jasno vidljiva	dobar učinak
	Ar/CH	2	nema rasta: zona inhibicije jasno vidljiva	dobar učinak
	Ar/BTCA/CH	2	nema rasta: zona inhibicije jasno vidljiva	dobar učinak

H [mm] - zona inhibicije; d (promjer uzorka) = 25 - 28 mm.



a b c d

Slika 63. Primjer zona inhibicije nakon inkubacije bakterije*Staphylococcus aureus* na uzorcima kože kojom se potvrđuje dobar antimikrobni učinak: a-c; područje ispod uzorka bez zone inhibicije i bez rasta ukazuje na dobar antimikrobni učinak

S obzirom na dobivene rezultate, većina uzoraka pokazuje dobar učinak spram bakterije *Staphylococcus aureus*, nakon provedenih obrada (tab. 13.). Vegetabilno štavljeni i sintetski štavljeni uzorak pokazuju značajnu antimikrobnu aktivnost prije predobrada plazmama i obradama sredstvima (BTCA i hitozan). Kod neobrađenog kromno štavljenog uzorka i cjepanika dolazi do blagog rasta te nema zone inhibicije, što ukazuje na to da je njihov antimikrobni učinak ograničen, a nakon obrada plazmama i sredstvima, iako nema zone inhibicije, nema rasta bakterija ispod uzorka što ukazuje na dobar antimikrobni učinak. Kromno štavljeni uzorak nakon predobrade argonovom plazmom i obradom sredstvima pokazuje da dolazi do rasta bakterija te se pretpostavlja da nije došlo do vezivanja čestica hitozana za njegovu površinu ili je uzorak kontaminiran tijekom postupka. Izvrsne rezultate pokazuje vegetabilno štavljeni neobrađeni uzorak kože prije i nakon močenja, a nakon obrada taj je učinak i dalje izvrstan, no primjetna je smanjena zona inhibicije (sa 7,5 mm na 3,5 mm zone inhibicije), te takav uzorak nije potrebno dodatno obrađivati antimikrobnim sredstvima kako bi pokazao odličnu antimikrobnu učinkovitost. Tanin kojim je proveden postupak štavljenja dodan je u suvišku i zbog toga je rezultirao izuzetno velikom zonom inhibicije, koja je vidljiva i nakon močenja koje je provedeno radi uklanjanja suviška tanina iz kože. Postignuti učinak vidljiv je na sl. 63. a-c.

Tablica 14. Rezultati određivanja antimikrobne učinkovitosti uzoraka kože spram gram negativne bakterije *Klebsiella pneumoniae*

Oznaka uzorka - obrada		H [mm]	Rast bakterija/ Opis	Procjena
Klebsiella pneumoniae				
kromno štavljeni	N	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	N/CH	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	O_2/BTCA	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	O_2/BTCA/CH	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	Ar/CH	0	srednji: nema zone inhibicije, prema kontrolnom uzorku rast je upola manji	nedovoljan učinak
	Ar/BTCA/CH	0	srednji: nema zone inhibicije, prema kontrolnom uzorku rast je upola manji	nedovoljan učinak
cjepanik	N	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	N/CH	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	O_2/BTCA	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	O_2/BTCA/CH	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	Ar/CH	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	Ar/BTCA/CH	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
vegetabilno štavljeni	N	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	Ar/CH	0	blagi: nema zone inhibicije, ograničene kolonije, rast je gotovo potpuno reduciran	ograničena učinkovitost
	Ar/BTCA/CH	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	N (močen)	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	močen Ar/CH	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
sintetski štavljeni	N	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	N/CH	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	O_2/BTCA	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	O_2/BTCA/CH	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	Ar/CH	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
	Ar/BTCA/CH	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak

H [mm] - zona inhibicije; d (promjer uzorka) = 25 - 28 mm.



a b c

Slika 64. Primjer rezultata nakon inkubacije bakterije *Klebsiela pneumoniae* na uzorcima kože: a- područje ispod uzorka – vidljiv rast kolonija; b- minimalni rast; c- bez zone inhibicije i bez rasta ispod uzorka - dobar antimikrobni učinak

Dobiveni rezultati kod kojih je testiran antimikrobni učinak obrađenih uzoraka kože spram negativne bakterije *Klebsiella pneumoniae* pokazuju uglavnom dobar antimikrobni učinak, koji se manifestira bez rasta bakterija i bez vidljive zone inhibicije (sl. 64.c). Nešto slabije rezultate pokazuje kromno štavljeni uzorak nakon predobrade argonovom plazmom i obradom sredstvima čije je prisustvo smanjilo njegovu antimikrobnu učinkovitost.

Opći zaključak vidljiv na temelju dobivenih rezultata prikazanih u tab. 14. i na sl. 64. ukazuju da provedene predobrade plazmom i obrade sredstvima pokazuju da ne dolazi do difuzije sredstva u agar i time je zona inhibicije izostala, iako gotovo svi uzorci, pa i neobrađeni pokazuju redukciju (inhibiciju) rasta bakterija ispod njihove površine.

7. Zaključci

Na temelju dobivenih rezultata i u skladu s ciljevima hipoteze mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- na temelju rezultata ispitivanja hidrofilnih svojstava uzoraka goveđe kože, optimirani su uvjeti predobrade kisikovom i argonovom plazmom. Sposobnost upijanja vode raste kod svih uzoraka nakon predobrade, izuzev sintetski štavljenog uzorka kod kojega, s obzirom na početnu hidrofilnost, nema značajne promjene vremena upijanja kapi nakon predobrade argonovom plazmom. Postizanje zadovoljavajuće razine hidrofilnosti značajno je radi udobnosti nošenja i izmjene tekuće vlage kod gotovog kožnog proizvoda;

- ispitivanjem svojstava sposobnosti prijenosa tekućine kroz uzorak uočava se značajna razlika između uzoraka predobrađenih argonovom i kisikovom plazmom u odnosu na neobrađene uzorke. Predobrađeni uzorci kromno i sintetski štavljene kože pokazuju lošija svojstva transporta i ukupnog prijenosa tekućina kroz uzorak što može ukazivati na promjene u morfološkoj strukturi kolagenskih vlakana;

- morfološke promjene uzoraka kože nakon predobrada kisikovom i argonovom plazmom potvrđene su analizom SEM snimki gdje je vidljivo 'čišćenje' površina kromno štavljenog, sintetski štavljenog i vegetabilno štavljenog uzorka uz nastala površinska „oštećenja“ lica. Nakon obrada polikarboksilnom kiselinom (BTCA) i hitozanom na predobrađene površine uzoraka plazmom vidljivo je lagano zaglađivanje i prekrivanje oštećenih dijelova nanesenim sredstvima što može ukazivati na umrežavanja polikarboksilne kiseline na površini uzorka i vezanje čestica hitozana. Nakon predobradama uzorka cjepanika plazmom te BTCA i hitozanom, vidljivo je sljepljivanje kolagenskih vlakana i njihovo usmjeravanje, što može utjecati na bolju kvasivost uzorka vodom koja lakše prodire s površine kroz strukturu.uzorak cjepanika nema lica što može negativno utjecati na antimikrobni učinak zbog nedostatnog kontakta sredstva s bakterijskim vrstama;

- analizom kemijske strukture površina neobrađenih i obrađenih uzoraka primjenom FTIR-ATR spektroskopije uočavaju se apsorpcijski pikovi pri 1630 cm^{-1} i 1550 cm^{-1} koji odgovaraju –C=O i $–NH_2$ skupinama. Porast intenziteta apsorpcijskih pikova može ukazivati na vezivanje hitozana na površinu supstrata. FTIR-ATR spektri pokazuju da su intenziteti apsorpcijskih vrpci močenog uzorka prije i nakon obrade argonovom plazmom i hitozanom slabijeg intenziteta, što može ukazivati na uklanjanje suviška tanina alkalnom otopinom znoja;

- Na temelju prikazanih rezultata propusnosti alkalne otopine znoja može se uočiti trend porasta sposobnosti apsorpcije otopine znoja uzoraka predobrađenih argonovom plazmom. Kod kromno štavljenih uzorka, pored porasta mase, uočava se i veća propusnost znoja nakon provedenih predobrada. Opisane promjene mogu se pripisati postignutim morfološkim promjenama strukture uzoraka u vidu otvaranja pora. Dobiveni rezultati su u korelaciji s rezultatima ispitivanja vremena upijanja kapi vode provedeni testom kapi, ali i analizom površine gdje dolazi do promjena nakon predobrade plazmom u vidu povećane hidrofilnosti uslijed otvaranja površinske strukture kože.

- spektrofotometrijskom analizom promjena obojenja vegetabilno štavljenog uzorka nakon procesa močenja vidljiva je značajna ukupna promjena u boji (dE) koja se može pripisati promjeni u zasićenosti te pomaku prema žutim tonovima. Karakteristična smeđa boja uzorka potječe od vegetabilnog štavila s visokim sadržajem tanina koje je ujedno odgovorno za iznimnu antimikrobnu učinkovitost. Promjena u obojenju nakon močenja ukazuje na otpuštanje tanina koji je u vidu štavila nanesen u suvišku.

- utjecaj tanina u vegetablnom štavilu vidljiv je u rezultatima ispitivanja antimikrobne učinkovitosti spram dviju bakterijskih vrsta – *Staphylococcus aureus* i *Klebsiela preumoniae* gdje i neobrađeni uzorci prije i nakon močenja pokazuju visoku razinu antimikrobne učinkovitosti.

- primjenjenim obradama postignuta je zadovoljavajuća antimikrobna učinkovitost gotovo svih ispitanih uzoraka koža, posebice sintetski štavljenog uzorka nakon predobrade kisikovom i argonovom plazmom i hitozanom.

8. LITERATURA

[1] Hamerli, P: Plasma aminofunctualisation of polymeric membrane surfaces for tissue engineering applications, Dissertation (2004), University of Veszprem

[2] Ercegović Ražić, S., Čunko, R.: Modifikacija svojstava tekstilija primjenom plazme, *Tekstil* **58** (2009) 3, 55-74

[3] Shishoo, R: Plasma technologies for textiles, Published by Woodhead Publishing Limited in association with Textile Institute, Abington Hall, Abington (2007), Cambridge, England

[4] Kutlu, B., Cireli, A.: Plasma technology in textile processing, Dokuz Eylul University, Textile Engineering Departement, 35100, Bornova-IZMIR

[5] Čunko, R., Ercegović Ražić, S.: Use of plasma technology for modification of textiles, *Annual 2010/2011 of the Croatian Academy of Engineering*, 199-212

[6] http://ss-strukovna-djurdjevac.skole.hr/skola/djelatnici/jasenka_markusic?dm_document_id=2067&dm_dnl=1 (pristupljeno 30.3.2019)

[7] Jelić, J: Modifikacija svojstava vune primjenom hladne nisko-tlačne plazme, Diplomski rad (2016), Sveučilište u Zagrebu

[8] Buyle, G.:Nanoscale finishing of textiles via plasma treatment, *Materials Techno.* **24** (2009)1, 46-51

[9] Choudhary, U., Dey, E., Bhattacharyya R., Ghosh, S. K.: A brief review on plasma treatment of textile materials, *Advance Research in Textile Engineering* (2018) **3**(1): 1019

[10] Morent, R. et al.: Non-thermal plasma treatment of textiles, *Surface and coatings technology*, **202** (2008) 14, 3427-3449

[11] https://www.plasma.com/en/plasmatechnik/introduction-to-plasma/ (pristupljeno 31.3.2019)

[12] Dubruel, P., Van Vlierberghe, S.: Biomaterials for bone regeneration, Published by Woodhead Publishing Series in Biomaterials, Cambridge, UK (2014) 202-224

[13] Rauscher, H. et al: Plasma Technology for Hyperfunctional Surfaces: Food, Biomedical and Textile Applications, (2010), John Wiley & Sons

[14] Peran, J., Ercegović Ražić, S., Ištef, K.: Application of dielectric barrier discharge plasma on modification of textile material properties, 11. Znanstveno-stručno savjetovanje Tekstilna znanost i gospodarstvo (2018), Zagreb, Hrvatska

[15] Thomas, S. et al.: Non-thermal plasma technology for polymeric materials, Elsevier, 2019

[16] Pavelić, B: Mogućnost uporabe plazma terapije u stomatologiji: teoretske osnove i klinička primjena, Diplomski rad (2015), Sveučilište u Zagrebu

[17] Sparavigna, A.: Plasma treatment advantages for textiles (2008), *arXiv preprint arXiv:0801.3727*

[18] Peran, J: Antimikrobna učinkovitost umjetnih celuloznih materijala postignuta modifikacijama površine plazmom i organosilikonskim/Ag spojevima, Natječaj za rektorovu nagradu (2014), Sveučilište u Zagrebu

[19] Belkind, A., Gershman, S.: Plasma cleaning of surfaces, *Vacuum Technology and Coating* (2008) 1–11

[20] Verdonck, P: Plasma etching, *V Oficina de Microelectronica* (1996)

[21] Chu, P.K., et al.: Plasma-surface modification of biomaterials, *Materials Science and Engineering*, **36** (2002) 143 – 206

[22] Poll, H. U. et al.: Penetration of plasma effects into textile structures, *Surface and Coatings Technology*, **142** (2001) 489-493

[23] Ercegović Ražić, S., Čunko, R., Šegota, S.: Application of AFM for identification of fibre surface changes after plasma treatments, *Materials Technology* (2011), **26**(3), 146-152

[24] Štěpánová, V. et al.: Surface modification of natural leather using diffuse ambient air plasma, International Journal od Adhesion and Adhesives, **77** (2017) 198-203

[25] Roshan, P: Functional finishing for textiles, Woodhead Publishing Series in Textiles (2015)

[26] Ristić, T. et al.: Antimicrobial efficiency of functionalized cellulose fibres as potential medical textiles, in book:A. Méndez-Vilas: Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances, Published by Badajoz (2011)

[27] Li, Q., E. T. Dunn, E. W. Grandmaison, M. F. A. Goosen: Applications and properties of chitosan, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, **7** (1992) 370-397

[28] Zargar, V., M. Asghari, A. Dashti: A review on chitin and chitosan polymers: Structure, chemistry, solubility, derivatives and applications, *ChemBioEng Reviews*, **2** (3), (2015) 204-226

[29] Jocić, D., T. Topalović: Biopolimer hitozan: Svojstva, interakcije i primena u obradi tekstilnog materijala, *Hemijska industrija*, **58** (10), 457-469 (2004)

[30] Lim, S.-H.: Synthesis of a fiber-reactive chitosan derivative and its application to cotton fabric as an antimicrobial finish and a dyeing-improving agent, Dissertation (2002), North Carolina State University

[31] Rinaudo, M.: Chitin and chitosan: Properties and applications, *Progress in Polymer Science*, **31** (2006) 603-632

[32] Mellegård, H. et al.: Antibacterial activity of chemically defined chitosans: Influence of molecular weight, degree of acetylation and test organism, International Journal of Food Microbiology, **148** (2011) 48-54

[33] Reed, R: Science for students of leather technology, Pergamon Press Ltd., Headington Hill Hall, Oxford (1966) 5, 134-138

[34] http://tehnika.lzmk.hr/tehnickaenciklopedija/kozarstvo.pdf (pristupljeno 8.4.2019)

[35] Nazer, D.W., Al-Sa'ed, R.M., Siebel, M.A.: Reducing the environmental impact of the unhairing-limingprocess in the leather tanning industry, *Journal of Cleaner Production*, **14** (2006) 65 – 74

[36] Sizeland, K.: Nanostructure and physical properties of collagen biomaterials, Doctoral thesys, Massey University, Manawatu, New Zealand, 2015

[37]Hursa Šajatović, A., Dragičević, Z.: Tehnološki proces iskrojavanja dijelova gornjišta obuće iz prirodne kože, *Koža& obuća*, **1**(3), (2017) 8-11

[38] Akalović, J., Skenderi, Z., Firšt Rogale, S., Zdraveva, E.: Propusnost vodene pare goveđe kože za izradu profesionalne obuće, *Koža & obuća*, **67** (2018) 6-11

[39] Li, Z., Paudecerf, D., Yang, J.: Mechanical behaviour of natural cow leather in tension, *Acta Mechanica Solida Sinica*, **22**(1)(2009) 37 - 44

[40] Falkiewicz-Dulik, M., Janda, K., Wypych, G.: Handbook of biodegradation, biodeterioration and biostabilization, ChemTec Publishing, Toronto (2015) 135-137

[41] Mark, H.F.: Encyclopedia od polymer science and technology, John Wiley & Sons, 2011

[42] https://www.gold-collagen.com/uk/blog/types-of-collagen/ (pristupljeno 7.4.2019)

[43] Covington, T.: Tanning chemistry: The science of leather, Published by Royal Society of Leather, Cambridge, UK, 2009, 1-7, 204-217, 318-324

[44] Wade, L.G.: Organic chemistry, Pearson Prentice Hall, Pearson Education, Inc., Upper Saddle River, NJ, 2010

[45] Kite M., Thomson R.: Conservationofleatherandrelatedmaterials, Published by Routledge, New York, 2006, 4-34

[46] Basil-Jones M.M. et al.: Leather structure determination by small-angle X-ray scattering (SAXS): Cross sections ofo and bovine leather, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58** (2010) 5286 – 5891

[47] Basil-Jones M.M., Edmonds, R.L., Cooper, S.M., Haverkamp, R.G.: Collagen fibril orientation in ovine and bovine leather affects strength: A small angle X-ray scattering (SAXS) study, *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* **59** (2011) 9972–9979

[48] Harris, S., Veldmeijer, A.J.: Why leather?, Published by Sidestone Press, Leiden, 2014

[49] Fratzl, P.: Collagen structure and mechanics, Springer Science+Business Media, New York, USA, 2008

[50] Buehler, M.J.: Nature designs tough collagen: Explaining the nanostructure of collagen fibrils, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103** (33) (2006)12285–12290

[51] Lischuk, V., Plavan, V., Danilkovich, A: Transformation of the collagen structure during beam-house processes and combined tanning,*Proceedings of the Estonian Academy of Sciences***12** (2006)188-198

[52] Haines, B.M., Barlow, J.R.: Review: The anatomy of leather, *Journal of Materials Science*, **10** (1975) 525 – 538

[53] Dixit, S., Yadav, A., Dwivedi, P.D., Das, M.: Toxic hazards of leather industry and technologies to combat threat:a review, *Journal of Cleaner Production*, **87** (2015) 39 – 49

[54] Beghetto, V. et al.: The Leather Industry: A Chemistry Insight, Part I: an Overview of the Industrial Process, University of Venice, 2013

[55] Krishnamoorthy, G., Sadulla, s., Sehgal, P.K., Mandal, A.B.: Green chemistry approaches to leather tanning process for making chrome-freeleather by unnatural amino acids, *Journal of Hazardous Materials*, **215– 216** (2012) 173– 182

[56] Shirmohammadli, Y., Efhamisisi, D., Pizzi, A.: Tanins as a sustainable raw material for green chemistry: A review, *Industrial Crops & Products*,**126** (2018) 316–332

[57] Sathiyamoorthy, M., Selvi, V., Mekonneu, D., Habtamu, S.: Preparation of eco-friendly leather by process modifications to make pollution free tanneries, *Journal of Engineering, Computers & Applied Sciences*, **2** (5) (2013) 17 – 22

[58] Žuvela Bošnjak, F., Kopitar, D., Akalović, J.: Influence of different tanning agents on thermal resistance of leather, 9th International textile, clothing and design conference – Magic World of Textiles, October 7.-10. 2018, Dubrovnik, Croatia

[59] Tomljenović, A., Akalović, J., Majnarić, I., Kraljević, I.: Postojanost inkjet otiska na poluprerađenoj goveđoj koži, *Koža& obuća*, **66** (3) (2017) 6-10

[60] Thanikaivelan, P., Rao, J.R., Nair, B.U., Ramasami, T.:Progress and recent trends in biotechnological methods for leather processing, *Trends in Biotechnology*, **22** (2004) 181 – 188

[61] Pollution Prevention and Abatement Handbook, The World Bank Group in collaboration with the United Nations Environment Programme and the UN Industrial Development Organization, USA,1998.

[62] https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/chem_background/exsumpdf/btca_508.pdf(pristup 10.4.2019)

[63] Orhan, M., Kut, D., Gunesoglu, C.: Improving the antibacterial activity of cotton fabrics finished with triclosan by the use of 1,2,3,4- butanetetracarboxylic acid and citric acid, *Journal ofAppliedPolymer Science*,**111** (2009)1344–1352

[64] El-tahlawy, et al: The antimicrobial activity of cotton fabrics treated with different crosslinking agents and chitosan, *Carbohydrate Polymers,* **60**(2005), 421-430

[65] Shin, H., Ueda, M.: Fixation of chitosan on cross-linked cellulose fabrics with polycarboxylic acids, *FIBER*, **55** (1) (1999) 1 – 6

[66] Sharaf, S., Opwis, K., Knittel, D., Gutmann, J.S.: Comparative investigations on the efficiency of different anchoring chemicals for the permanent finishing of cotton with chitosan, *AUTEX Research Journal*, **11** (2) (2011) 71 – 77

[67] AATCC 79-2000: Absorbency of Bleached Textiles; AATCC Technical Mannual

[68] AATCC Test Method 195 – 2011: Liquid moisture management properties of textile fabrics

[69]https://sdlatlas.com/products/mmt-moisture-management-tester#product-details,pristup 20.4.2019.

[70] Mršić, G. & Žugaj, S.: Analiza GSR čestica upotrebom elektronskog mikroskopa (SEM/EDX), *Policija i sigurnost*, **16** (2008) 3-4, 179-200.

[71] Caballero, B: Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (SECOND Edition), Academic Press, Johns Hopkins University, Maryland (2003) 3922-3928

[72] Zofka, A., Maliszewska, D., Maliszewski, M., Boratynski, J.: Application of FTIR method to examine the polymer content in the modified bitumen and to assess susceptibility of bitumen to ageing, *Roads and Bridges – Drogi i Mosty*, **14** (2015) 163 – 174

[73] https://www.opticsplanet.com/perkinelmer-spectrum-express-software-lx108873.html (pristupljeno 20.4.2019)

[74] HRN EN ISO 20645:2008: Tkanine – određivanje antibakterijske aktivnosti – Ispitivanje difuzijom na ploči s agarom (ISO 20645:2004; EN ISO 20645:2004)

[75] Hedberg, Y.S., Lidén, C., Odnevall Wallinder, I.: Correlation between bulk- and surface chemistry of Cr-tanned leatherand the release of Cr(III) and Cr(VI), *Journal of Hazardous Materials* **280** (2014) 654–661

[76] Falcão, L., Araújo M.E.M.: Application of ATR–FTIR spectroscopy to the analysis of tannins inhistoric leathers: The case study of the upholstery from the 19thcentury Portuguese Royal Train, *Vibrational Spectroscopy***74** (2014) 98–103

[77] Nashy E.H.A., Osman, O., Mahmoud, A.A., Ibrahim, M: Molecular spectroscopic study for suggested mechanism of chrome tanned leather, *Spectrochimica Acta Part A***88** (2012) 171– 176

[78] Tite, T., Miu, L., Giurginca, M., Meghea, A.: Evaluation of degradation of parchment leather by FT-IR and UV-VIS-NIR spectroscopy, *Revista de Chimie57* (5) (2006) 466-471

[79] Puică, N.M., Pui, A., Florescu, M.: FTIR spectroscopy for the analysis of vegetable tanned ancient leather, European Journal of Science and Technology, **2** (4) (2006) 49-53

[80] Ercegović Ražić, S.: Ciljana modifikacija svojstava tekstilnih materijala primjenom plazme i metalnih spojeva, Doktorski rad, Tekstilno-tehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2010.

[81] Ljubić, V.: Analiza svojstava celuloznih tekstilnih materijala bojadisanih prirodnim bojilom životinjskog podrijetla ekstrahiranim iz *Dactylopius coccus*, Tekstilno-tehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2017.

SAŽETAK

Istraživanja utjecaja plazme na različite supstrate aktualna su u smislu razvoja ekološki i ekonomski prihvatljivih postupaka predobrade i obrade gotove kože s ciljem dobivanja proizvoda novih funkcionalnih svojstava. Koža pod utjecajem plazme prolazi kroz različite kemijske i fizikalne promjene u površinskom sloju što rezultira poboljšanim krajnjim svojstvima u vidu povećane hidrofilnosti i reaktivnosti. Primjenu niskotlačne plazme u procesima obrade koža karakterizira visoka stabilnost procesa, dobra učinkovitost i homogenost obrada. U ovom je radu istražena mogućnost primjene niskotlačne plazme u svrhu modifikacije svojstava goveđe kože i funkcionalizacije površine polimerizacijom 1,2,3,4 - butantetrakarboksilne kiseline (BTCA) te naknadnom obradom antimikrobnog sredstva hitozana. Predobrade koža su provedene primjenom kisikove i argonove plazme kako bi se usporedila svojstva predobrađenih koža utjecajem različitih plinova - kemijski reaktivnog kisika i inertnog argona. Ispitivanja su provedena na četiri različitih uzoraka koža - kromno štavljenom uzorku, kromno štavljenom uzorku cjepanika, vegetabilno štavljenom uzorku i sintetski štavljenom uzorku. U prvom dijelu istraživanja provedena je optimizacija procesnih parametara predobrade primjenom kisika i argona kao procesnih plinova, nakon čega je proveden postupak polimerizacije BTCA u plazmi. Drugi dio istraživanja odnosi se na nanošanje hitozana na predobrađene uzorke kože metodom prskanja s ciljem postizanja antimikrobne učinkovitosti. Hidrofilnost uzoraka ispitana je pomoću testa kapi i uređaja za ispitivanje sposobnosti prijenosa tekuće vlage uzoraka. SEM mikroskopijom utvrđene su promjene morfoloških karakteristika neobrađenih i obrađenih uzoraka, a praćenje promjena na razini kemizma je provedeno korištenjem FTIR–ATR spektroskopije. Kako bi se ispitalo ponašanje kože u uvjetima uporabe, mjerena je propusnost otopine alkalnog znoja u zadanim uvjetima, a remisijskim spektrofotometrom pratila se promjena obojenja vegetabilno štavljenog uzorka nakon močenja u alkalnoj otopini znoja. Antimikrobna učinkovitost obrađenih kožnih uzoraka ispitana je kvalitativnom metodom ispitivanja difuzijom na ploči s agarom, spram dvije bakterijske vrste Staphylococcus aureus i Klebsiella pneumoniae.Na temelju dobivenih rezultata ispitivanja može se zaključiti da se provedenim predobradama kisikovom i argonovom plazmom u optimiranim uvjetima može doprinjeti poboljšanju funkcionalnih i uporabnih svojstava ispitanih uzoraka goveđih koža. Provedenim modifikacijama poboljšana je hidrofilnost uzoraka te postignut zadovoljavajući antimikrobni učinak gotovo svih ispitanih uzoraka koža, posebice sintetski štavljenog uzorka.

Ključne riječi: *niskotlačna plazma, predobrada površine, goveđe kože, polimerizacija BTCA, hitozan, SEM analiza, FTIR analiza, sorpcijska svojstva, mikrobiološka učinkovitost.*

SUMMARY

Recent researches related to plasma effects on different substrates are important in the development of ecologically and economically friendly processes of leather pretreatments focused on obtaining new functional properties. Leather undergoes different chemical and physical reactions in the surface layer under the influence of plasma, resulting in improved hydrophilicity and reactivity. Low-pressure plasma treatments of leather substrates are characterized by high process stability, good efficiency and uniformity of the process. In this paper, the possible application of low-pressure plasma in modification processes of bovine leather and functionalization using 1,2,3,4 – butantetracarboxylic acid (BTCA) and chitosan were researched. Pretreatments of leather substrates were conducted using argon and oxygen in order to assess different impacts of chemically reactive oxygen and inert argon gas on leather properties. The tests were carried out on four different bovine leather substrates – chrom tanned leather, chrom tanned cleaved leather, vegetabile tanned leather and leather tanned with synthetic tanning agent (Cr - free). In the first part of the experiment, optimization of process parameters was conducted followed by plasma polymerization process of BTCA. The second part of the experiment is related to the deposition of chitosan on pretreated samples by spray method in order to achieve antimicrobial properties. Hydrophilicity of the samples was tested by simple drop test and moisture management tester. Surface morphological changes were analyzed using SEM microscopy and chemical changes were analyzed using ATR-FTIR spectroscopy. In order to examine leather performance in conditions of usage, the permeability of alkaline sweat solution under defined conditions was measured. Changes in colorimetric parameters of vegetaible tanned leather after wetting in alkaline sweat solution were measured using remission spectrophotometer. Antimicrobial efficacy of treated leather samples was tested according to Agar diffusion plate test against two bacterial species Staphylococcus aureus and Klebsiella pneumoniae. Based on the obtained results it can be concluded that applied pretreatments with oxygen and argon plasma in optimized process conditions can contribute to the improvement of functional properties as well as wearability in conditions of use. Achieved modifications positively affected hydrophilicity and antimicrobial effectiveness of almost all leather samples, particularly Cr-free leather sample.

Keywords: *low-pressure plasma, surface pretreatment, bovine leather, polymerization of BTCA, chitosan, SEM analysis, FTIR analysis, sorption properties, microbiological effectiveness*.