

EXPLORATORY RESEARCH REGARDING THE USE OF ORGANIC BIOPOLYMERS FROM TANNERIES IN AGRICULTURE

PART II – CHARACTERIZATION OF PROTEAN BIOPOLYMERS BY PHYSICAL-CHEMICAL ANALYSES

CERCETĂRI EXPLORATORII PRIVIND UTILIZAREA BIOPOLIMERILOR ORGANICI DIN TĂBĂCĂRII ÎN AGRICULTURĂ

PARTEA II – CARACTERIZAREA BIOPOLIMERILOR PROTEICI PRIN ANALIZE FIZICO-CHIMICE

Gabriel ZĂINESCU^{1*}, Petre VOICU², Carmen Alina GHERGHINA², Lucia SANDRU³

¹ National R&D Institute for Textile and Leather – Division: Leather and Footwear Research Institute,
93 Ion Minulescu str., 031215, Bucharest, Romania, email: icpi@icpi.ro

² Research Institute for Soil Science and Agrochemistry, Bucharest, Romania,
61 Marasti Blvd., 71331, Bucharest, Romania, email: office@icpa.ro

³ Research Institute for Plant Protection,
8 Ion Ionescu de la Brad Blvd., Bucharest, Romania

EXPLORATORY RESEARCH REGARDING THE USE OF ORGANIC BIOPOLYMERS FROM TANNERIES IN AGRICULTURE – PART II – CHARACTERIZATION OF PROTEAN BIOPOLYMERS BY PHYSICAL-CHEMICAL ANALYSES

ABSTRACT. Most tanneries and leather goods manufacturers are facing serious problems regarding waste disposal, the more so as their storage in landfills leads to negative effects on the ecosystem. Using untanned wastes is of particular interest because it offers the opportunity to eliminate nearly all wastes from fleshing, while obtaining qualitatively and economically valuable products. Organic biopolymers are a source of raw material for agriculture, whereas the composition of protean wastes provides sufficient elements to improve the composition and remediation of degraded soils and plants can exploit some elements, such as nitrogen, calcium, magnesium, sodium, potassium etc. As a result of the existing large quantities of organic waste, it is known from technological practice that from processing one tonne of raw hide, 75% is discarded, of which 50% can be used as organic fertilizer to repair poorly productive or unproductive land areas (sandy, salty, eroded etc.). This scientific paper presents the characterization of protean biopolymers by methods specific for morpho-structural analysis (UV-VIS, IR spectroscopy, thermal analyses, X-ray diffraction, microscopy, etc.). Protean biopolymers were obtained by means of an innovative bioenzymatic procedure of processing protean waste, which in combination with other polymers (polyacrylamide, acrylic, maleic, cellulose, starch, etc.) will be used in agriculture.

KEY WORDS: biopolymer, protean wastes, tannery, polyelectrolytes, structural analysis.

CERCETĂRI EXPLORATORII PRIVIND UTILIZAREA BIOPOLIMERILOR ORGANICI DIN TĂBĂCĂRII ÎN AGRICULTURĂ – PARTEA II – CARACTERIZAREA BIOPOLIMERILOR PROTEICI PRIN ANALIZE FIZICO-CHIMICE

REZUMAT. Majoritatea tăbăcăriilor și a fabricanților de produse din piele au probleme serioase în ceea ce privește eliminarea deșeurilor, cu atât mai mult cu cât depozitarea lor în gropile de gunoi conduce la efecte negative asupra ecosistemului. Folosirea deșeurilor netăbăcite prezintă un interes deosebit, deoarece oferă posibilitatea eliminării aproape integrale a deșeurilor de la șeruire, și în același timp, obținerea unor produse valoroase sub aspect calitativ și economic. Biopolimerii de natură organică reprezintă o sursă de materii prime pentru agricultură, întrucât compoziția deșeurilor proteice oferă suficiente elemente care să îmbunătățească compoziția și remedierea solurilor degradate, iar plantele pot valorifica unele elemente: azot, calciu, magneziu, sodiu, potasiu etc. Ca urmare a existenței cantităților mari de deșeuri organice, din practica tehnologică se știe că din prelucrarea unei tone de piele crudă se aruncă 75% din care 50% se pot folosi ca îngrijășământ organic pentru remedierea suprafetelor de teren slab productive sau neproductive (nisipoase, săratură, erodate etc.). Prezenta lucrare științifică prezintă caracterizarea biopolimerilor proteici prin metode specifice pentru analiza morfo-structurală (spectroscopie UV-VIS, IR, analize termice, difracție de raze X, microscopie etc.). Biopolimerii proteici au fost obținuți prin un procedeu inovativ bioenzimatic de prelucrare a deșeurilor proteice, care în combinație cu alți polimeri (poliacrilamidă, acrilic, maleic, celuloză, amidon etc.) vor fi utilizati în agricultură.

CUVINTE CHEIE: biopolimer, deșeuri proteice, tăbăcărie, polyelectrolyti, analiză structurală.

RECHERCHES EXPLORATOIRES SUR L'UTILISATION DES BIOPOLYMERES ORGANIQUES DES TANNERIES EN AGRICULTURE – PARTIE II – LA CARACTÉRISATION DES BIOPOLYMERES PROTÉIQUES PAR DES ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

RÉSUMÉ. La plupart des tanneries et des fabricants de produits en cuir ont de graves problèmes en ce qui concerne l'élimination des déchets, d'autant plus que leur stockage dans des décharges conduit à un impact négatif sur l'écosystème. L'utilisation des déchets de peau non-tanné est particulièrement intéressante car cela offre la possibilité pour éliminer presque tous les déchets d'écharnage, et tout en obtenant des produits de valeur en ce qui concerne la qualité et l'économie. Les biopolymères de nature organique sont une source de matières premières pour l'agriculture, alors que la composition des déchets protéiques offre des éléments suffisants pour améliorer la composition et l'assainissement des sols dégradés et les plantes peuvent exploiter certains éléments, comme l'azote, le calcium, le magnésium, le sodium, le potassium, etc. À la suite de l'existence de grandes quantités de déchets organiques, on sait de la pratique technologique qu'on jette 75% du traitement d'une tonne de peaux brutes, dont 50% peuvent être utilisés comme engrangement organique pour remédier aux zones peu productives ou imprédictives (sableuses, salées, érodées, etc.). Ce travail présente la caractérisation des biopolymères protéiques par des méthodes spécifiques pour l'analyse morpho-structurelle (spectroscopie UV-VIS, IR, analyse thermique, diffraction des rayons X, microscopie, etc.). Les biopolymères protéiques ont été obtenus par un procédé novateur bioenzymatique de traitement des déchets protéiques, qui, en combinaison avec d'autres polymères (polyacrylamide, acrylique, maleique, cellulose, amidon, etc.) seront utilisés dans l'agriculture.

MOTS CLÉS: biopolymère, déchets protéiques, tannerie, polyélectrolytes, analyse structurale.

INTRODUCTION

Recovery of protean wastes from tanneries is a necessity of clean, ecologic technologies, as only 25% of raw hide becomes finished product, and the largest quantity of wastes resulted from leather processing is that of untanned wastes (approximately 600 kg

INTRODUCERE

Valorificarea deșeurilor proteice din tăbăcării reprezintă o necesitate a tehnologiilor curate, ecologice, deoarece numai 25% din pielea crudă se regăsește ca produs finit, iar cea mai mare cantitate de deșeuri rezultată de la prelucrarea pieilor o reprezintă deșeurile netăbăcite (rezultă aproximativ 600 kg

* Correspondence to: Gabriel ZAINESCU, National R&D Institute for Textile and Leather, Division: Leather and Footwear Research Institute, 93 Ion Minulescu St., sector 3, 031215, Bucharest, Romania, email: icpi@icpi.ro.

protean wastes result from 1000 kg raw hide).

Current technologies are mainly destined for untanned leather wastes and generally aim at extracting collagen protein, the basic component of leather, in the form of short fibres or dissolved, for a high yield, which can be used as protean binder, as collagen source in the pharmaceutical and cosmetic industry, in the footwear industry in manufacturing insoles obtained from tanned (chrome) leather wastes, or to obtain fertilizers [1, 2].

This paper is a follow-up of previously presented scientific research [3] for elaborating an innovative bioenzymatic process of protean wastes in acid environment, obtaining a protean biopolymer which, in combination with other polymers (polyacrylamide, acrylic, maleic, cellulose, starch etc.) will be used in agriculture to repair degraded/eroded soils and to grow greenhouse and field plants.

The four variants of biopolymers created [3, 4] have been characterized by physical-chemical and instrumental methods.

MATERIALS AND METHODS

Protean biopolymers: DP Z – hydrolyzed leather waste, DPP 10 – protean biopolymer with 10% synthetic polymer, DPP 50 – protean biopolymer with 50% synthetic polymer and the final sample [3].

UV-VIS spectroscopy: a V-550 JASCO spectrophotometer with spectral range: 220-850 nm and spectral resolution: 0.1 nm has been used.

IR spectrometry: a FT/IR-ATR system from Perkin Elmer Corporation USA has been used.

Optical microscopy: the Leica S4E polarized light optical stereo-microscope (optical zoom: 20x – 160x) has been used.

Differential Scanning Calorimetry (DSC): a TGA/DSC1 Mettler Toledo SUA equipment has been used, with crucible of 70 µl alumine, sample 1-2.5 mg, in air, with a heating rate of 10°C/min.

RESULTS AND DISCUSSIONS

1. UV-VIS Spectroscopy of biopolymers

Most proteins have the maximum absorption in the

deșeuri proteice la 1000 kg de piele crudă).

Tehnologiile actuale sunt destinate cu precădere deșeurilor de piele netăbăcită și urmăresc, în general, extragerea proteinei colagenice, componenta de bază din piele, sub formă de fibre scurte sau dizolvată, pentru un randament cât mai ridicat, care poate fi folosită ca liant proteic, ca sursă de colagen în industria farmaceutică și cosmetică, în industria de încălțăminte la fabricarea branțurilor obținute din deșeuri de piei tăbăcite (cromate), sau pentru obținerea de fertilizanți [1, 2].

Prezenta lucrare reprezintă o continuare a cercetărilor științifice prezentate anterior [3] de realizare a unui procedeu inovativ bioenzimatic de prelucrare a deșeurilor proteice în mediu acid, obținându-se un biopolimer, care, în combinație cu alți polimeri (poliacrilamidă, polimer acrilic, polimer maleic, celuloză, amidon etc.), poate fi utilizat în agricultură la remedierea solurilor degradate/erodate și la creșterea plantelor de seară și de câmp.

Cele 4 variante de biopolimeri realizate [3, 4] au fost caracterizate prin metode fizico-chimice și instrumentale.

MATERIALE ȘI METODE

Biopolimeri proteici: DP Z – deșeu de piele hidrolizat, DPP 10 – biopolimer proteic cu 10% polimer sintetic, DPP 50 – biopolimer proteic cu 50% polimer sintetic și probă finală [3].

Spectroscopia UV-VIS: S-a utilizat un spectrofotometru JASCO, model V-550 cu domeniul spectral: 220-850 nm și rezoluția spectrală: 0,1 nm.

Spectrometria în IR: S-a utilizat un sistem FT/IR-ATR Perkin Elmer Corporation SUA.

Microscopie optică: S-a utilizat stereomicroscopul optic Leica S4E cu lumină polarizată (zoom optic: 20x – 160x)

Calorimetria diferențială dinamică (DSC): S-a folosit un aparat de tip TGA/DSC1 Mettler Toledo SUA, cu creuzet de 70 µl aluminiu, probă 1-2,5 mg, în aer, cu rata de încălzire de 10°C/min.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

1. Spectroscopia UV-VIS a biopolimerilor

Majoritatea proteinelor au maximul de absorbție

ultraviolet range at 280 nm, mainly due to the aromatic part of chains containing phenylalanine, tyrosine and indole amino-propionic acid. Protean biopolymers in UV-VIS generally have a characteristic spectrum with a major absorption peak at 218 nm [5].

Table 1: Spectral characteristics of protean biopolymers in the UV/VIS domain
Tabelul 1: Caracteristici spectrale în domeniul UV/VIS ale biopolimerilor proteici

Biopolymer variants Variante de biopolimeri	Wavelength number Lungime de undă	λ_{UV-VIS} nm	R%
1 DPP 10	236 nm; 317 nm; 831 nm	55.83; 47.32; 95.92	
2 DPP 50	326 nm; 413 nm	53.47; 50.16	
3 DP Z	366 nm; 314 nm	62.47; 62.26	
4 Final sample	236 nm; 317 nm; 831 nm	55.83; 47.32; 95.92	

Samples were dissolved in distilled water and analyzed by UV-VIS spectroscopy, using quartz tanks with 1 cm thick layers across the range of 200-800 nm. In the "fingerprint" spectra, absorption maxima in the range of 310-370 nm were recorded, which confirms the presence of conjugated systems, namely the amide structure of samples. Band shift in protean biopolymers provides information on the hydrogen link strength and the water content. Also, in the hydrolysis process of the sample structural changes take place. The UV-VIS domain from 230-294 nm is given by transitions: $\pi \rightarrow \pi^* + n \rightarrow \pi^*$, assigned to the amide unit (CONH) and is present for sample marked DPP 10, and the domain from 310-370 nm is specific to conjugated systems and is seen in all samples. UV-VIS spectral diagram of sample DPP 10 is presented in Figure 1.

în ultraviolet la 280 nm, în principal datorită părții aromatică a lanțurilor care conține fenilalanina, tirozina și triptofanul. Biopolimerii proteici au în general în UV/VIS un spectru caracteristic cu un peak de absorbție majoritar la 218 nm [5].

Probele au fost dizolvate în apă distilată și analizate prin spectroscopie UV/VIS, utilizându-se cuve de cuarț cu grosimea de strat de 1 cm pe tot domeniul 200-800 nm. S-au înregistrat în spectrele „amprentă” maxime de absorbție în domeniul 310-370 nm, ceea ce confirmă prezența sistemelor conjugate, respectiv structura amidică a probelor. Deplasarea benzii la biopolimerii proteici oferă informații referitoare la tăria legăturii de hidrogen, respectiv a conținutului de apă. De asemenea, în procesul de hidroliză al proteinei se produc modificări structurale. Domeniul UV-VIS de la 230-294 nm este dat de tranzițiile: $\pi \rightarrow \pi^* + n \rightarrow \pi^*$, atribuite unității amidice (CONH) și este prezent pentru proba notată DPP 10, iar domeniul cuprins între 310-370 nm este specific sistemelor conjugate și este întâlnit la toate probele. În Figura 1 se prezintă diagrama spectrală UV-VIS a probei DPP 10.

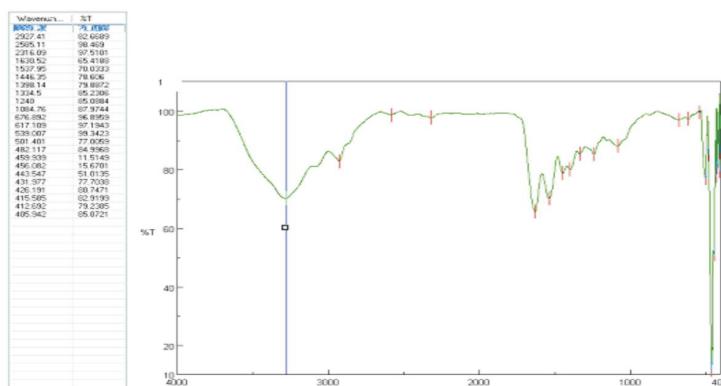


Figure 1. UV-VIS spectral diagram of sample DPP 10
Figura 1. Diagrama spectrală UV-VIS a probei DPP 10

2. Attenuated Total Reflection Spectrometry (FT/IR-ATR) of biopolymers

Knowing the main spectral characteristics of protean biopolymers in IR and UV/VIS domains, a few bands significant for the amidic structure have been selected, which can enhance structural modifications taken place in the hydrolysis process and in the interaction with various synthetic polymers, in the presence of enzymatic "enhancers".

Molecular absorption spectrometry in infrared IR is based on vibration-rotation transitions taking place at molecular level by absorption of infrared radiation. From IR spectra, chemical bonds and the molecular structure of organic compounds can be identified [6, 7].

Bands characteristic to collagen are similar to those of other proteins. IR spectrum presents amide I, II and III bands around 1660, 1550 and 1240 cm^{-1} respectively. Hydroxyl groups and hydrogen bonds are recorded between 3600 and 3100 cm^{-1} .

According to spectral assignments, in the case of collagen hydrolysate, bands corresponding to amide groups ($\nu_{\text{C=O}}$ at 1645 cm^{-1} , δ_{NH} and $\nu_{\text{C-N}}$ at 1556 cm^{-1}) were observed [5, 6].

In addition, signals characteristic to NH groups are present at 1338 cm^{-1} . OH groups in hydroxyproline units send a signal at 1082 cm^{-1} .

2. Spectrometrie cu reflexie totală atenuată (FT/IR-ATR) a biopolimerilor

Cunoscând principalele caracteristici spectrale ale biopolimerilor proteici în domeniile IR și UV/VIS, s-au selecționat câteva benzi semnificative pentru structura amidică, care pot pune în evidență modificările structurale produse în procesul de hidroliză și interacțiunea cu diversi polimeri sintetici, în prezența unor „amelioratori” enzimatici.

Spectrometria de absorbție moleculară în infraroșu IR se bazează pe tranziții de vibrație-rotație ce au loc la nivel molecular prin absorbție de radiații infraroșii. Din spectrele IR se pot identifica legături chimice și structura moleculară a compușilor organici [6, 7].

Benzile caracteristice pentru colagen sunt similare cu cele ale altor proteine. Spectrul IR prezintă benzi amidice I, II și III la aproximativ 1660, 1550 și respectiv 1240 cm^{-1} . Grupările hidroxil și legăturile de hidrogen sunt înregistrate între 3600 și 3100 cm^{-1} .

Conform atribuirilor spectrale, în cazul hidrolizatului de colagen au fost observate benzile corespunzătoare grupelor amidice ($\nu_{\text{C=O}}$ la 1645 cm^{-1} , δ_{NH} și $\nu_{\text{C-N}}$ la 1556 cm^{-1}) [5, 6].

De asemenea, semnalele caracteristice grupelor NH sunt prezente la 1338 cm^{-1} . Grupele OH din unitățile de hidroxiprolină dau un semnal la 1082 cm^{-1} .

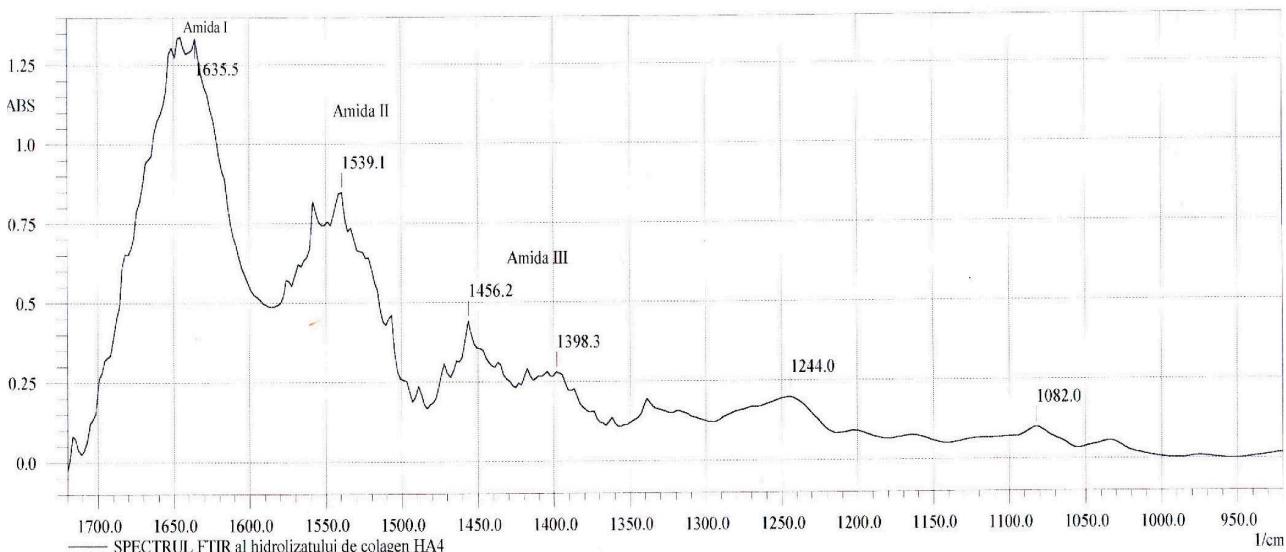


Figure 2. IR spectrum of DPZ protean biopolymer
Figura 2. Spectrul IR al biopolimerului proteic DPZ

Figures 3 and 4 present FT/IR-ATR spectral characteristics of biopolymer samples.

În Figurile 3 și 4 se prezintă caracteristicile spectrale FT/IR-ATR ale probelor de biopolimeri.

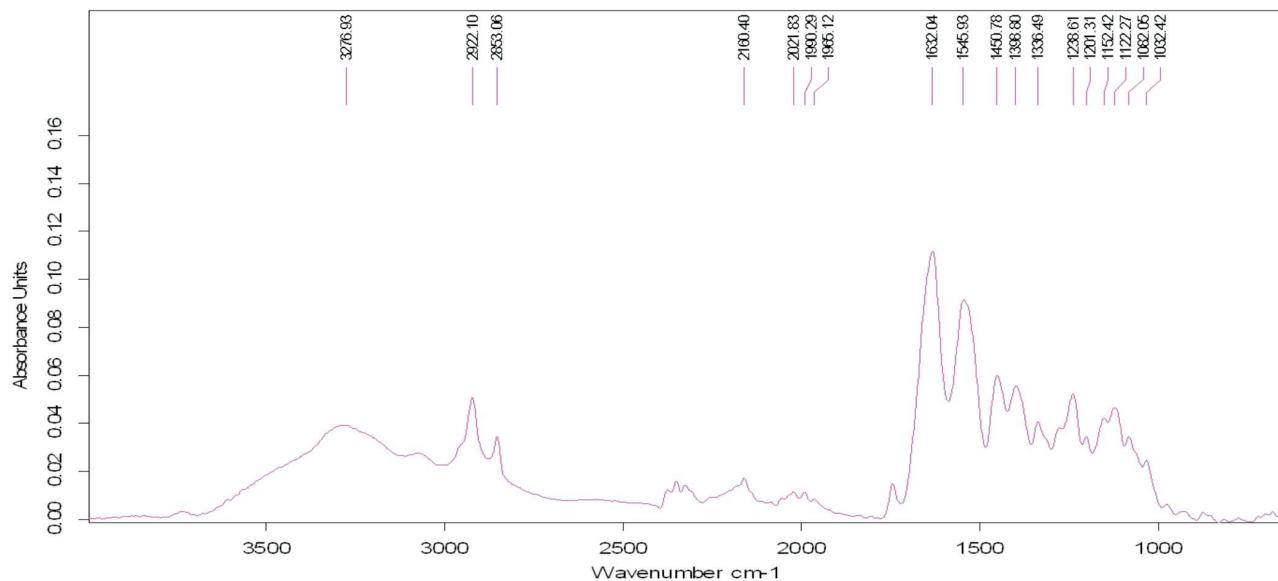


Figure 3. FT/IR-ATR spectrum of sample DPP 10
Figura 3. Spectrul FT/IR -ATR al probei DPP 10

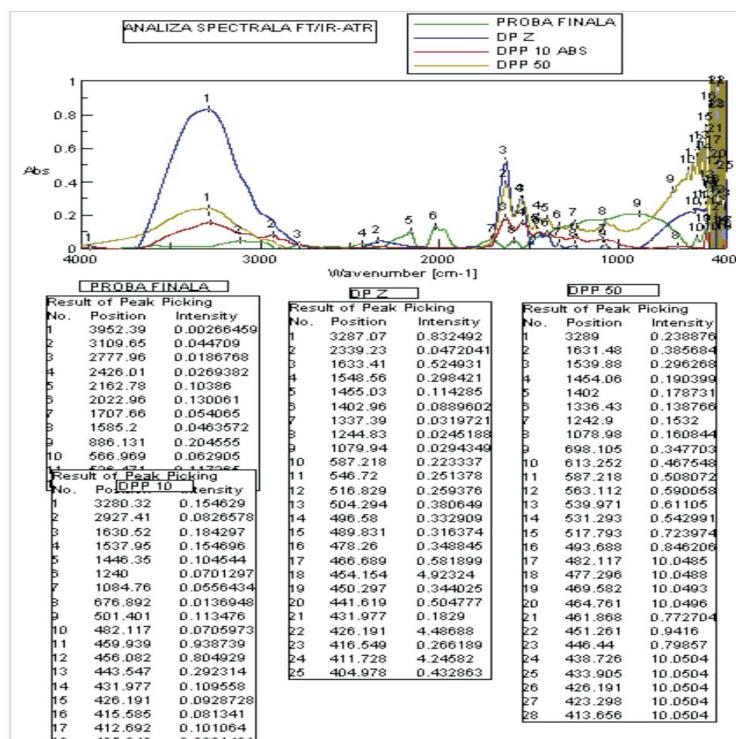


Figure 4. FT/IR-ATR spectra of the four biopolymer samples
Figura 4. Spectrele FT/IR-ATR ale celor patru probe de biopolimeri

Amide II absorption band is given by the N-H deformation and C-N stretching modes. Amide III absorption bands are attributed to combinations of several stretching vibrations: C-N and C-O, as well as deformation vibrations: N-H and O=C-N. Thus, in the infrared domain, the bands at 1660 cm^{-1} and 1550 cm^{-1} assigned to amide I ($\nu_{C=O}$) and amide II (δ_{NH}) structures and the band at $3450\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{OH}+\nu_{NH}$), as well as the distance between the two amide structures ($\Delta\nu=\nu_{AI}-\nu_{AH}$) were considered.

Therefore, through their position and absorbance, bands at 1660 and 1550 cm^{-1} give information regarding their relative degree of degradation. If shifts and transmittance changes are found, it is clear that structural changes have occurred.

If the band at 1550 cm^{-1} shifts to 1530 cm^{-1} , the shift is considered a marker of distortion. Hydrolysis of the chain is marked by changes of the band in the range of $3450\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$, which tends to widen and change its transmittance, at the same time the band at 1660 cm^{-1} increase in intensity, because in its structure there is a $-OH$ component, and the band at 1550 cm^{-1} decrease in intensity. The oxidation degree can be assessed based on $\nu_{C=O}$ valence vibration from $1700\text{-}1750\text{ cm}^{-1}$ given by the carbonyl/carboxyl structures. Side chain oxidation is marked by the low intensity band at 1710 cm^{-1} .

Experimental results **confirm the following**:

- The $4000\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ domain is attributed to stretching vibrations: **O-H** and **N-H**) and is present in **all studied samples**.
- Hydroxyl group content, determined from the transmittance of band at $3200\text{-}3450\text{ cm}^{-1}$ indicates a weak dehydration phenomena **in all samples except DPZ (because of the interaction between the synthetic polymer and the protean biopolymer)**.
- The $2500\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$ domain indicates the presence of stretching vibrations given by groups $X\equiv Y$, $X=Y=Z$ (where X, Y, Z can be: C, N, O, S and X can be replaced as well with: Cl, Br, I) being present **in all samples (it is confirmed also by the technology of obtaining protean biopolymer)**.
- The $1660\text{-}1630\text{ cm}^{-1}$ domain ($\nu_{C=O}$, from **-CONH-**) is specific to amide I and is found **in all samples**. Amide I transmittance band is due to stretching vibrations of carbonyl groups. This domain is sensitive to conformation changes and vibrations of hydrogen bonds.

Banda de absorbție amida II este dată de modurile de deformare N-H și de întindere C-N.

Benzile de absorbție pentru amida III sunt atribuite unor combinații de mai multe vibrații de întindere: C-N și C-O, dar și de deformare: N-H și O=C-N. Astfel, în domeniul infraroșu, s-au avut în vedere benzile de la 1660 cm^{-1} și 1550 cm^{-1} atribuite structurilor amidă I ($\nu_{C=O}$) și amidă II (δ_{NH}) și banda de la $3450\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{OH}+\nu_{NH}$), ca și distanța dintre cele două structuri amidice ($\Delta\nu=\nu_{AI}-\nu_{AH}$).

Deci, benzile de la 1660 și 1550 cm^{-1} dau informații referitoare, prin poziția și absorbanța lor, la gradul relativ de degradare. Dacă se constată deplasări ale acestora și modificări ale transmitanței, este evident că au avut loc transformări structurale.

Dacă banda de la 1550 cm^{-1} se deplasează spre 1530 cm^{-1} , deplasarea este considerată marker al denaturării. Hidroliza catenei este marcată de modificări ale benzii din regiunea $3450\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ care tinde să se largescă și să-și schimbe transmitanța; în același timp crește în intensitate banda de la 1660 cm^{-1} , deoarece în structura ei este și o componentă $-OH$, iar banda de la 1550 cm^{-1} scade în intensitate. Gradul de oxidare poate fi evaluat pe baza vibrației de valență $\nu_{C=O}$ de la $1700\text{-}1750\text{ cm}^{-1}$ dată de structurile carbonilice/carboxilice. Oxidarea catenei laterale este marcată prin banda de mică intensitate de la 1710 cm^{-1} .

Rezultatele experimentale confirmă următoarele:

- Domeniul $4000\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ este atribuit unor vibrații de întindere: **O-H** și **N-H** și este prezent pentru **toate probele studiate**.
- Conținutul de grupări hidroxilice, determinat din transmitanța benzii de la $3200\text{-}3450\text{ cm}^{-1}$, indică un fenomen de deshidratare slab **la toate probele cu excepția DPZ (din cauza interacției dintre polimerul sintetic și biopolimerul proteic)**.
- Domeniul $2500\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$ indică prezența unor vibrații de întindere date de grupări $X\equiv Y$, $X=Y=Z\oplus$ (unde X, Y, Z pot fi: C, N, O, S iar X poate fi înlocuit și cu: Cl, Br, I) fiind prezent pentru toate probele (este confirmată și de tehnologia de obținere a biopolimerului proteic).
- Domeniul $1660\text{-}1630\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{C=O}$, din $-CONH-$) este specific amidei I și se regăsește la toate probele. Banda de transmitanță amidă I este datorată vibrațiilor de întindere ale grupărilor carbonil. Acest domeniu este sensibil la modificările de conformatie și la vibrațiile legăturilor de hidrogen.

- The 1530-1550 cm⁻¹ domain (δ_{NH} , from -CONH-) is attributed to amide II (δ_{NH} , from -CONH-). The band at 1550 cm⁻¹ is shifting towards smaller wavelength numbers, which indicate an accentuated denaturizing phenomenon.

- The bands at 1660 and 1550 cm⁻¹, through their position and absorption, give information regarding the relative degree of degradation. If shifts and transmittance changes are found, it is clear that structural changes have occurred.

- The denaturation degree determined by the amide I/amide II ratio has values over 1.0, proving that this process occurs *in all samples*. The amide I/amide II ratio is higher because the OH groups contribute, absorbing in the same spectral domain.

- In the 1470–1370 cm⁻¹ domain the δCH_2 and δCH_3 groups absorb and the vibrations *take place in all studied samples*.

- In the 680–450 cm⁻¹ domain there are several low intensity absorption bands, which are attributed to the deformation vibrations of CH, OH, NH groups and *is present in all analyzed samples*.

3. Optical microscopy of biopolymers

By examining protein biopolymers with optical microscope in polarized light, chemical and physical damage of protein wastes has been detected in the form of broken and fragmented fibers that have partially or fully turned into a sticky gelatinous substance [8].

The images obtained from the optical microscope in polarized light, presented in Figure 5, show synthetic polymers in the shape of filiform needles and, of course, skin fibers.

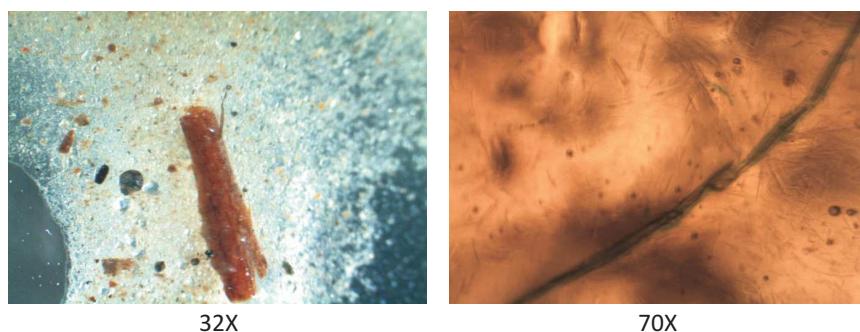


Figure 5. Images of biopolymers obtained by optical microscopy (magnitude 32x and 70x)
Figura 5. Imagini ale biopolimerilor obtinute prin microscopie optica (magnitudine 32x si 70x)

- Domeniul 1530-1550 cm⁻¹ (δ_{NH} , din -CONH-) este atribuit amidei II (δ_{NH} , din -CONH-). Banda de la 1550 cm⁻¹ se deplasează spre numere de undă mai mici, ceea ce indică un fenomen de denaturare accentuat.

- Benzile de la 1660 și 1550 cm⁻¹ dau informații referitoare, prin poziția și absorbanța lor, la gradul relativ de degradare. Dacă se constată deplasări ale acestora și modificări ale transmitanței, este evident că au avut loc transformări structurale.

- Gradul de denaturare determinat de raportul amidă I/amidă II are valori peste 1,0, demonstrând că apare acest proces ***pentru toate probele***. Raportul amidă I/amidă II este mare deoarece contribuie și grupările OH, care absorb în același domeniu spectral.

- În domeniul 1470–1370 cm⁻¹ absorb grupările δCH_2 și δCH_3 , iar vibrațiile ***sunt pentru toate probele studiate***.

- În domeniul 680–450 cm⁻¹ sunt prezente câteva benzi de absorbție de mică intensitate, care se atribuie vibrațiilor de deformare ale grupelor: CH, OH, NH și ***este prezent pentru toate probele analizate***.

3. Microscopie optică a biopolimerilor

Prin examinarea cu ajutorul microscopului optic în lumină polarizată a biopolimerilor proteici s-a detectat deteriorarea chimică și fizică a deșeurilor proteice sub formă de fibre destrămate și fragmentate care s-au transformat parțial sau integral într-o substanță gelatinoasă lipicioasă [8].

În imaginile din Figura 5, obținute la microscopul optic în lumină polarizată, se observă prezența polimerilor sintetici sub formă de ace filiforme și, bineînțeleș, a fibrelor de piele.

4. Differential thermal analysis of biopolymers (DSC)

Differential thermal analysis (DSC) is the thermal-analytical technique that allows recording, depending on the temperature, of the energy required to compensate the difference in temperature between sample and reference material (inert), subjected to a well-defined temperature program.

Thermogravimetry (TG) is a dynamic technique which allows measuring depending on temperature (or time) of the mass of a heated (and cooled) sample, following a well-defined temperature program.

By thermal analyses, the temperature range in which polymer decomposition takes place has been established. In the first part, the crystallization water is evaporated up to temperatures of 200°C.

In the second part, in the range of 200-300°C, burning (decomposition) and elimination of gaseous products CO and CO₂ takes place, with strong exothermic effect on the DTA curve of polysaccharides. Between 300-500°C the resulted oxide mass is practically constant. The presence of polymethylmethacrylate determines an order on narrow ranges in the case of protean biopolymer, which determines the increase of Tg.

The increase of synthetic polymer quantity in the biopolymer structure determines an increase of Tg values. This can be equally due to potential reticulations between protean and synthetic polymer, and to relative order generated by the presence of enzymes in the hydrolysis process.

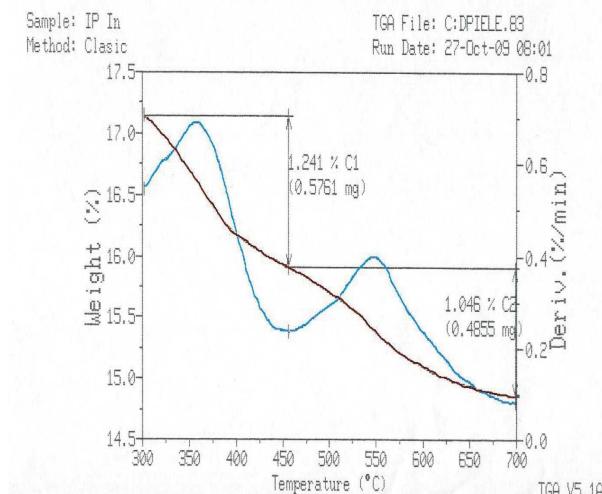


Figure 6. TGA/DSC derivatographic curve for DPP10 synthesized biopolymer
Figura 6. Curba derivatografică TGA/DSC pentru biopolimerul sintetizat DPP10

4. Analiza termică diferențială a biopolimerilor (DSC)

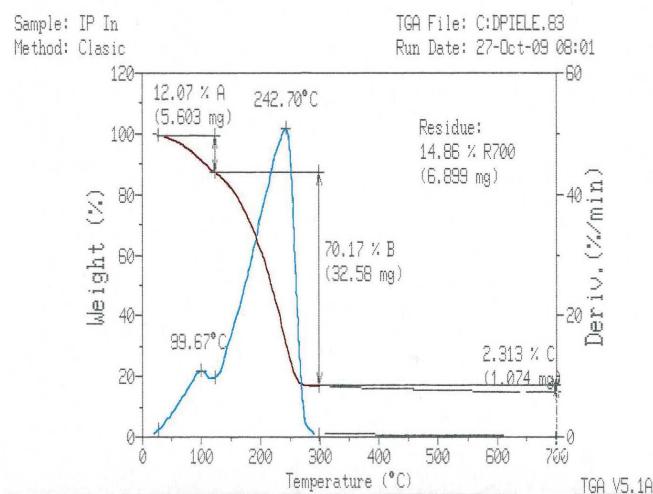
Analiza termică diferențială (DSC) este tehnica termo-analitică ce permite înregistrarea, în funcție de temperatură, a energiei necesare pentru compensarea diferenței de temperatură dintre probă și un material de referință (inert), supus unui program de temperatură bine determinat.

Termogravimetria (TG) este o tehnică dinamică ce permite măsurarea în funcție de temperatură (sau timp) a masei unei probe încălzite (răcite), după un program de temperatură bine stabilit.

Prin analiza termică, s-a stabilit domeniul de temperatură în care are loc descompunerea polimerului. În prima parte are loc pierderea apei de cristalizare până la temperaturi de 200°C.

În partea a doua, în intervalul 200-300°C are loc arderea (descompunerea) cu eliminarea produșilor gazoși CO și CO₂ cu efect puternic exotermic pe curba DTA a polizaharidelor. Între 300-500°C, masa oxidică rezultată este practic constantă. Prezența polimetilmethacrilatului determină o ordonare pe domenii înguste în cazul biopolimerului proteic, fapt ce determină creșterea Tg.

Creșterea cantității de polimer sintetic în structura biopolimerului determină o creștere a valorilor Tg-ului. Aceasta se poate datora în egală măsură atât potențialelor reticulare intervenite între polimerul proteic și cel sintetic, dar și ordonării relative generate de prezența enzimelor în procesul de hidroliză.



CONCLUSIONS

Biopolymers have been obtained by an innovative enzymatic procedure of processing protean waste resulted from leather processing, which in combination with other polymers (polyacrylamide, acrylic polymer, maleic polymer, cellulose, starch, etc.) can be used for remediation of degraded/eroded soils and growth of greenhouse and field plants.

All instrumental analyses (UV-VIS, IR spectroscopy, thermal analyses, X-ray diffraction, microscopy, etc.) have highlighted both reticulations between the protean polymer and the synthetic one, and the order of the polymer structure, which is due to the enzymatic hydrolysis process.

Acknowledgements

This article was elaborated within the Project PNCDI II – IDEAS entitled “Research regarding the remediation and/or conditioning of degraded, eroded or contaminated soils with multi-component systems of biodegradable polymers”, financed by UEFISCU, Romania, financing contract no. 1123/2009.

REFERENCES

1. Bailey, A.J., *J. Soc. Leath. Tech. Ch.*, **1992**, 76, 111.
2. Trandafir, V., Georgescu, I., Simionescu, C., *Light Industry*, (in Romanian), **1984**, 3, 103.
3. Zăinescu, G., Voicu, P., Gherghina, C.A., Sandru, L., *Leather and Footwear Journal*, **2009**, 9, 4
4. Macovescu, G., Popescu, M., Mione, A., *Leather and Footwear Journal*, **2006**, 6, 3, 1
5. Balaban, A.T., Banciu, M., Pogany, I., *Applications of Physical Methods in Organic Chemistry* (in Romanian), **1983**.
6. Heidemann, E., *Das Leder*, **1997**, 48, 77.
7. Anghelescu-Dogaru, A., Popescu, G., Chițanu, I., *J. Environ. Prot. Ecol.*, **2004**, 5.
8. Miu, L., Chelaru, C., Vîlsan, M., Plavan, V., *Leather and Footwear Journal*, **2009**, 9, 2, 75-86.

CONCLUZII

Biopolimerii au fost obținuți printr-un procedeu inovativ enzimatic de prelucrare a deșeurilor proteice rezultate la prelucrarea pieilor, care, în combinație cu alți polimeri (poliacrilamidă, polimer acrilic, polimer maleic, celuloză, amidon, etc.) pot fi utilizati la remedierea solurilor degradate/erodate și la creșterea plantelor de seră și de câmp.

Toate analizele instrumentale (spectroscopie UV-VIS, IR, analize termice, difracție de raze X, microscopie etc.) au pus în evidență atât reticulările intervenite între polimerul proteic și cel sintetic cât și ordonarea structurii polimerice, fapt datorat procesului de hidroliză enzimatică.

Mulțumiri

Această lucrare a fost elaborată în cadrul Proiectului „Cercetări privind remedierea și/sau condiționarea solurilor degradate, erodate sau contaminate cu sisteme multicomponente de polimeri biodegradabili”, finanțat de UEFISCU, România, în cadrul programului PNCDI II – IDEI, prin contract de finanțare nr. 1123/2009.