REVISTA

DE PIELĂRIE ÎNCĂLŢĂMINTE

Leather and Footwear Journal

June/ Iunie 2016
Volume / Volumul 16
Issue / Ediția 2

INCDTP - SUCURSALA INSTITUTUL DE CERCETĂRI PIELĂRIE ÎNCĂLȚĂMINTE
INCDTP - DIVISION: LEATHER AND FOOTWEAR RESEARCH INSTITUTE

PIELĂRIE/LEATHER ÎNCĂLŢĂMINTE/FOOTWEAR BUNURI DE CONSUM DIN CAUCIUC/RUBBER GOODS

AIMS AND SCOPE

REVISTA DE PIELARIE INCALTAMINTE aims to present current science and technology developments and initiatives in Romania and South Eastern Europe region. The Journal publishes original research papers of experimental and theoretical nature, followed by scientific, technical, economic and statistic information, reviews of local and foreign conferences, congresses, symposia, with the purpose of stimulating the dissemination of research results.

REVISTA DE PIELARIE INCALTAMINTE focuses particular attention on the key areas of new systems and technologies applied in leather, footwear and rubber goods sectors; biomaterials, collagen-based medical devices, biochemistry of collagen; environment; innovation; leather and parchment cultural heritage; management and marketing, quality assurance; applications of IT field in these sectors, and other related fields.

JOURNAL SPONSORSHIP

Edited with the sponsorship from the Ministry of Education, Research and Innovation of Romania, National Authority for Scientific Research. We are pleased to acknowledge support from the following: The Confederation of National Associations of Tanners and Dressers of the European Community – COTANCE, Belgium; Romanian Leather and Fur Producers Association, APPBR, Romania; Light Industry Owner's Federation – FEPAIUS, Romania.

COPYRIGHT

INCDTP – DIVISION: LEATHER AND FOOTWEAR RESEARCH INSTITUTE, 93 Ion Minulescu St., postal code 031215, sector 3, Bucharest, Romania, Europe.

ABSTRACTING AND INDEXING

REVISTA DE PIELARIE INCALTAMINTE is acknowledged in Romania by the National University Research Council (CNCSIS) in Category B+, and is indexed in Chemical Abstracts Service (CAS) Database, USA, CAB Database (CAB International, UK), Elsevier's Compendex and SCOPUS, EBSCO, CiteFactor and AcademicKeys.

SUBSCRIPTIONS

REVISTA DE PIELARIE INCALTAMINTE (Print ISSN 1583-4433) is published 4 times a year, by Leather and Footwear Research Institute (ICPI) Bucharest, Romania, Division of The National Research and Development Institute for Textiles and Leather (INCDTP).

The subscription rates are 160 EURO for companies and 100 EUR for individual subscribers, and the rate for a single issue is 40 EUR. Subscriptions (include mailing costs) can be made at the editorial office, to the following address:

INCDTP – DIVISION: LEATHER AND FOOTWEAR RESEARCH INSTITUTE, 93 Ion Minulescu Street, postal code 031215, sector 3, Bucharest, Romania, Europe, or by order in the following account:

Account holder: INCDTP – Division: Leather and Footwear Research Institute; Address of the account holder: 93 Ion Minulescu Street, postal code 031215, sector 3, Bucharest, Romania, Europe

IBAN Code: RO25 RNCB 0074029208380005

Bank code: 300413024

Swift bank address: RNCBROBU; Bank: BCR sector 3 (ROMANIAN COMMERCIAL BANK – SECTOR 3); Bank address: 11 Decebal Blvd., Bl. S14, sector 3, Bucharest, Romania.

CORRESPONDENCE

Editor in Chief – Dr. Viorica Deselnicu

INCDTP – Division: Leather and Footwear Research Institute (ICPI), 93, Ion Minulescu Street, Bucharest, sector 3, postal code 031215, Romania, Europe; tel./fax: + 40 21 323 52 80, e-mail: jlfjournal@gmail.com

CERTEX Publishing House – Bucharest, 16 Lucreţiu Pătrăşcanu St., sector 3; Tel./ Fax: (0040) 21 340.55.15; certex@ns.certex.ro

Site: http://revistapielarieincaltaminte.ro

Pagină Facebook: http://www.facebook.com/LeatherFootwearJournal

SCOP ŞI OBIECTIVE

REVISTA DE PIELARIE INCALTAMINTE are ca scop prezentarea celor mai actuale contribuţii şi iniţiative în ştiinţă şi tehnologie din România şi Europa de Sud-Est. Revista publică lucrări de cercetare originale, cu caracter experimental şi teoretic, urmate de informaţii ştiinţifice, tehnice, economice şi statistice, informaţii despre conferinţe, congrese, simpozioane, cu scopul stimulării diseminării rezultatelor ştiinţifice.

REVISTA DE PIELARIE INCALTAMINTE abordează domenii cheie privind noile sisteme şi tehnologii aplicate în sectoarele pielărie, încălţăminte şi bunuri de consum din cauciuc; biomateriale, dispozitive medicale pe bază de colagen, biochimia colagenului; mediu; inovare; patrimoniu cultural din piele şi pergament; management şi marketing, asigurarea calităţii; aplicaţii IT în aceste sectoare, şi alte domenii conexe.

SUPORT ŞI SPONSORIZARE

Revista este editată cu sprijinul Ministerul Educaţiei, Cercetării şi Inovării din România, Autoritatea Naţională pentru Cercetare Ştiinţifică. Mulţumim pentru suport Confederaţiei Asociaţiilor Naţionale ale Tăbăcarilor şi Confecţionerilor din Comunitatea Europeană – COTANCE, Belgia; Asociaţiei Producătorilor de Piele şi Blană din România, APPBR, România; Federaţiei Patronale a Textilelor, Confecţiilor şi Pielăriei – FEPAIUS, România.

COPYRIGHT

INCDTP – SUCURSALA INSTITUTUL DE CERCETĂRI PIELĂRIE ÎNCĂLŢĂMINTE, Str. Ion Minulescu nr. 93, cod poştal 031215, sector 3, Bucureşti.

INDEXARE

REVISTA DE PIELARIE INCALTAMINTE este recunoscută în România de către Consiliul Naţional al Cercetării Ştiinţifice din Învăţământul Superior (CNCSIS), în Categoria B+, şi este indexată în baze de date internaţionale: Chemical Abstracts Service (CAS) Database, SUA, CAB Database (CAB International, UK), Compendex şi SCOPUS, EBSCO, CiteFactor şi AcademicKeys.

ABONAMENTE

REVISTA DE PIELARIE INCALTAMINTE (ISSN 1583-4433) apare trimestrial, fiind publicată de către Institutul Naţional de Cercetare - Dezvoltare Pentru Textile şi Pielărie (INCDTP) – Sucursala Institutul de Cercetare Pielărie - Încălţăminte (ICPI) Bucureşti, România.

Costul unui abonament este de 160 euro pentru societăţi comerciale, 100 euro pentru persoane fizice, iar preţul unui singur număr este de 40 euro.

Abonamentele (includ cheltuieli de expediţie) se pot încheia la redacţie, pe adresa:

INCDTP – SUCURSALA INSTITUTUL DE CERCETĂRI PIELĂRIE ÎNCĂLŢĂMINTE

Str. Ion Minulescu nr. 93, cod poştal 031215, sector 3, Bucureşti, sau prin ordin de plată în următorul cont:

INCDTP – Sucursala Institutul de Cercetări Pielărie Încălţăminte

CUI 9342821

Cod IBAN: RO36 RNCB 0074029208380001 - BCR sector 3, Bucureşti, România.

CORESPONDENŢĂ

Editor Şef – Dr. Viorica Deselnicu

INCDTP – Sucursala Institutul de Cercetări Pielărie-Încălţăminte, Str. Ion Minulescu nr. 93, cod poştal 031215, sector 3, Bucureşti, Tel./fax: + 40 21 323 52 80, e-mail: jlfjournal@gmail.com

Editura CERTEX – Bucureşti, Str. Lucreţiu Pătrăşcanu nr. 16, sector 3; Tel./ Fax: (0040) 21 340.55.15; certex@ns.certex.ro

Website: http://revistapielarieincaltaminte.ro

Facebook page: http://www.facebook.com/LeatherFootwearJournal

ICAMS 2016

20-22 OCTOBER 2016

The 6th INTERNATIONAL CONFERENCE

ADVANCED MATERIALS AND SYSTEMS

20-22 October 2016, Bucharest, ROMANIA

ORGANIZED BY:

NATIONAL RESEARCH & DEVELOPMENT INSTITUTE FOR TEXTILE AND LEATHER (INCDTP)
DIVISION LEATHER & FOOTWEAR RESEARCH INSTITUTE (ICPI), BUCHAREST, ROMANIA

SUPPORTED BY: MINISTERUL EDUCAȚIEI ȘI CERCETĂRII ȘTIINȚIFICE

MINISTRY OF NATIONAL EDUCATION AND SCIENTIFIC RESEARCH

PARTNERS:

EAST SIBERIA STATE UNIVERSITY OF TECHNOLOGY & MANAGEMENT, ULAN-UDE, RUSSIA

LEATHER ENGINEERING DEPT., EGE UNIVERSITY IZMIR, TURKEY

"GH. ASACHI" TECHNICAL UNIVERSITY IASI, ROMANIA

"POLITEHNICA" UNIVERSITY BUCHAREST, ROMANIA

ITA TEXCONF INNOVATION AND TECHNOLOGICAL TRANSFER INCUBATOR BUCHAREST, ROMANIA

COTANCE, BELGIUM

ROMANIAN LEATHER & FUR PRODUCERS ASSOCIATION BUCHAREST, ROMANIA

industriALL EUROPEAN TRADE UNION

SFERA FACTOR THE ROMANIAN LEATHER MANUFACTURERS ORGANIZATION

Previous ICAMS Proceedings are indexed in SCOPUS, Chemical Abstracts Service (CAS) Database, USA, CiteFactor and Technical Information Library of Hannover, Germany. The 2010 edition has been accepted and indexed in Web of Science. The current edition will be submitted for indexing to the above databases.

Conference fees:	**Before 1 August**	**After 1 August**
Participant	**300 Euro**	**350 Euro**
Student	**125 Euro**	**125 Euro**
Accompanying person	**125 Euro**	**125 Euro**

* The conference fee includes the participation with two papers as first author and the conference materials.

IMPORTANT DEADLINES

Extended!

Submission of full papers	**– July 10th**
Notification of full papers acceptance	**– August 1st**

The 6th INTERNATIONAL CONFERENCE ADVANCED MATERIALS AND SYSTEMS

As novel materials and systems play a key role in science and technology in the 21st century, **ICAMS 2016** aims to bring together researchers, scientists, engineers, experts and policy makers to exchange and share their experiences, new ideas, and research results on these important issues. The interdisciplinary interactions between scientists working in different scientific areas – materials science and engineering, chemistry, physics, biology, medicine etc. will focus on, but are not limited to:

CONFERENCE TOPICS

1. **Advanced Materials**
2. **Biomaterials**
3. **Innovative Technologies**
4. **Industrial Ecology & Circular Economy**
5. **Cultural Heritage**
6. **Economics, Management & Marketing**

SUBMISSION OF ABSTRACTS/FULL PAPERS

The abstracts (max. 200 words followed by **3 key words**) should be submitted in A4 format, one page with Times New Roman font 12 pt. Abstracts should provide a good **overview** of your full paper and cover the following headings: Introduction; Issues to be addressed; Objectives of your paper; Methods; Results; Originality; Conclusions.

Please submit the **abstracts** as attachment in MS Word format no later than **April 4th to** icams.ro@gmail.com.

Notification of acceptance will be e–mailed to the contact authors by **April 15th**. The submission of **full paper** is due before **July 10th, 2016**. Papers will be blind cross-evaluated by reviewers. Further guidelines concerning the format of the full papers will be soon available on the Conference website (www.icams.ro).

Please e–mail the full paper as attachment in MS Word format to: icams.ro@gmail.com.

Authors will be notified until **August 1st.** Accepted papers will be published in **ICAMS 2016 Proceedings (Proceedings will be submitted for indexing in international databases such as Web of Science, SCOPUS, Compendex, CiteFactor and others).** Papers may be excluded from the Proceedings if registration fees are not received by **August 31st, 2016**.

CONFERENCE VENUE

The Conference will take place in Bucharest, ROMANIA.

ORGANIZING COMMITTEE

Dr. Luminita Albu, Chair, *Director INCDTP - Leather and Footwear Research Institute Division (ICPI), RO*
Dr. Carmen Ghituleasa, Co-Chair, *General Director, National Research and Development Institute for Textile and Leather, RO*
Dr. Viorica Deselnicu, Co-Chair, *Scientific Secretary, INCDTP - Leather and Footwear Research Institute Division, RO*
Ioana Pivniceru, *INCDTP – ICPI , RO*
Dana Gurau, *INCDTP – ICPI, RO*

INTERNATIONAL SCIENTIFIC COMMITTEE

Luminita ALBU, INCDTP-ICPI, RO
Carmen GHITULEASA, INCDTP, RO
Alina POPESCU, INCDTP, RO
Viorica DESELNICU, INCDTP-ICPI, RO
Laurentia ALEXANDRESCU, INCDTP-ICPI, RO
Lucretia MIU, INCDTP-ICPI, RO
Bahri BASARAN, Ege University, Bornova, TR
Dmitriy SHALBUEV, East Siberia State Univ. of Techn.&Manag., RU
Huseyin ATA KARAVANA, Ege University, Bornova, TR
Viacheslav BARSUKOV, Kiev Nat. Univ. of Techn&Design, UA
Ana-Maria VASILESCU, INCDTP-ICPI, RO
Gheorghe COARA, INCDTP-ICPI, RO
Carmen GAIDAU, INCDTP-ICPI, RO
Madalina ALBU, INCDTP-ICPI, RO
Mihaela GHICA, *"Carol Davila"* Univ. of Medicine&Pharmacy, RO
Gustavo GONZALEZ-QUIJANO, Secretary General, COTANCE, BE
Gurbuz GULUMSER, Ege University, Bornova, TR
Altan AFSAR, Ege University, Bornova, TR
Oral BITLISLI, Ege University, Bornova, TR
Arife Candas ADIGUZEL ZENGIN, Ege University, Bornova, TR
Alpaslan KAYA, Mustafa Kemal University, Antakya, TR
Minodora LECA, University of Bucharest, RO
Stelian MAIER,*"Gheorghe Asachi"* Technical Univ. of Iasi, RO
Alcino MARTINHO, CTIC, PT
Carmen ARIAS CASTELLANO, General Secretary, CEC, BE
Keyong TANG, Zhengzhou University, CN
Aurelia MEGHEA, *"Politehnica"* University Bucharest, RO
Elena BADEA, University of Craiova and INCDTP-ICPI, RO
Aura MIHAI, *"Gheorghe Asachi"* Technical Univ. of Iasi, RO
Mehmet METE MUTLU, Ege University, Bornova, TR
Wuyong CHEN, Sichuan University, CN
Georgios PANAGIARIS, Technological Education Institute, GR
Victoriya PLAVAN, Kiev Nat. Univ. of Techn&Design, UA
Irina TITORENCU, "N. Simionescu" I.C.B.P., RO
Gabriel ZAINESCU, INCDTP-ICPI, RO
Ding ZHIWEN, CLFIR Institute, CN
Dana DESELNICU, *"Politehnica"* University Bucharest, RO
Gheorghe MILITARU, *"Politehnica"* University Bucharest, RO
Anca PURCAREA, *"Politehnica"* University Bucharest, RO

INFORMATION

ICAMS 2016 Secretariat

Contact Person:
Ms. Dana Gurau
Address: 93 Ion Minulescu St., code 030215,
Bucharest, Romania
Tel: +4021-323.50.60
Fax: +4021-323.52.80
Email: icams.ro@gmail.com

EDITOR IN CHIEF
Dr. Viorica DESELNICU
Scientific Secretary
INCDTP - Division: Leather and Footwear Research Institute, Bucharest

EDITOR
Dr. Luminita ALBU
Director
INCDTP - Division: Leather and Footwear Research Institute, Bucharest

EDITORIAL ASSISTANT
Dana Florentina GURAU
INCDTP - Division: Leather and Footwear Research Institute, Bucharest

EDITORIAL ADVISORY BOARD

Prof. Dr. Aurel ARDELEAN
Western University "Vasile Goldis" Arad
94-96 Revolutiei Blvd., 310025, Arad, Romania
Member of the Romanian Academy of Medical Sciences,
Member of Academy of Science, New York
Tel./Fax: +40 257 28 03 35
e-mail: rectorat@uvvg.ro

Prof. Dr. Altan AFSAR
Ege University Faculty of Engineering
Leather Engineering Department
35100, Bornova, Izmir, Turkey
Tel: + 90 232-3884000/2644
Fax: +90 232 342 53 76
e-mail: altan.afsar@ege.edu.tr
http://deri.ege.edu.tr

Prof. Dr. Viaceslav BARSUKOV
National University of Technology & Design
2, Nemyrovych-Danchenko Str., Kiev, Ukraine
Tel./Fax: +380 (44) 290-05-12
e-mail: chemi@mail.vtv.kiev.ua

Assoc. Prof. Dr. Mehmet Mete MUTLU
Ege University, Faculty of Engineering
Leather Engineering Department,
35100 Bornova, Izmir, Turkey
Tel.: +90 232 3880110 – 2644
Fax: + 90 232 342 53 76
e-mail: mete.mutlu@ege.edu.tr

Prof. Dr. Todorka Gancheva VLADKOVA
University of Chemical Technology and Metallurgy,
Bld. Kliment Ohridsky 8, Sofia, 1756, Bulgaria
e-mail: tgv@uctm.edu

Prof. Dr. Margareta FLORESCU
The Bucharest Academy of Economic Studies
6 Piata Romana, 010374, Bucharest, Romania
Tel.: +40 21 319 1900; + 40 21 319 1901
Fax: +40 21 319 1899
e-mail: icefaceus@yahoo.com

Assoc. Prof. Dr. Zenovia MOLDOVAN
University of Bucharest
90-92 Şos. Panduri, 050663, sector 5,
Bucharest, Romania
Tel.: +40 21 4103178/125
e-mail: z_moldovan@yahoo.com

Prof. Dr. Wuyong CHEN
National Engineering Laboratory for Clean Technology of Leather Manufacture,
Sichuan University, Chengdu 610065, Sichuan, P. R. China
Tel: +86-(0)28-85404462; +86-28-85405840
Fax: +86-28-85405237
e-mail: wuyong.chen@163.com

Prof. Dr. Aurelia MEGHEA
University "Politehnica" of Bucharest
1-7 Polizu, sector 1, 011061, Bucharest, Romania
Tel.: +40 021 212 99 52
e-mail: a_meghea@chim.upb.ro

Assoc. Prof. Dr. Sergiu Stelian MAIER
"Gh. Asachi" Technical University of Iasi
67 Dimitrie Mangeron Blvd., Iasi, Romania
Tel.: +40 232 21 23 22; Fax: +40 232-21 16 67
e-mail: smaier@ch.tuiasi.ro

Dipl. Eng. Mariana VOICU
Ministry of Economy, Trade and Tourism
152 Calea Victoriei, sector 1, 010096,
Bucharest, Romania
Tel. +4021/2025158; Fax: +4021/2025159
e-mail: Mariana_Voicu@minind.ro

Dipl. Eng. Dorel ACSINTE
Director of S.C PIELOREX S.A.
President of Romanian Leather and Fur Producers Association, APPBR
33 A, Prelungirea Sos. Giurgiului, Jilava, Ilfov, Romania
Tel. + 40 31 425 5556; Fax + 40 21 457 1018
e-mail: pielorexsa@yahoo.com, appb.ro@gmail.com

Prof. Dr. Aura MIHAI
"Gh. Asachi" Technical University of Iasi
67 Dimitrie Mangeron Blvd., Iaşi, Romania
Tel.: +40 232 21 23 22; Fax: +40 232-21 16 67
e-mail: amihai@tex.tuiasi.ro

Assoc. Prof. Dr. Dana DESELNICU
University "Politehnica" of Bucharest
1-7 Polizu, sector 1, 011061, Bucharest, Romania
Tel.: +40 021 212 99 52
e-mail: d_deselnicu@yahoo.com

CONTENTS / CUPRINS / SOMMAIRE

	CONTENTS	CUPRINS	SOMMAIRE	
Weijuan ZHANG **Bo XU** **Jin ZHOU** **Baozhen CHENG**	Features of plantar pressure distribution of children with spastic diplegia	Caracteristicile distribuţiei presiunii plantare la copiii cu diplegie spastică	Les caractéristiques de répartition de la pression plantaire chez les enfants avec diplégie spastique	**95**
Mariana COSTEA **Aura MIHAI**	Comparative analysis of dynamic plantar pressure distribution on different areas of the foot	Analiza comparativă a distribuţiei presiunilor plantare în dinamică pe diferite zone ale piciorului	La comparaison de la répartition des pressions plantaires en dynamique dans de differentes zones du pied	**105**
Marudhamuthu VINODHKUMAR **Velappan BRINDHA** **James KANAGARAJ** **Alagumuthu TAMILSELVI** **Sayeed SADULLA**	Phyto-based preservation of raw skins for salinity reduction in tannery wastewater	Conservarea pieilor crude cu ajutorul plantelor pentru reducerea salinităţii apelor reziduale din tăbăcării	La conservation des peaux à base de plantes pour réduire la salinité des eaux usées des tanneries	**113**
Rui LI **Yuzeng WANG** **Rui DAI** **Zhihua SHAN**	The electric active starch flocculation of protein and its degradation products in leather effluents	Flocularea proteinei cu amidon activ în câmp electric şi produsele de degradare ale acesteia în efluenţii rezultaţi la prelucrarea pieilor	La floculation de la protéine par l'amidon active en champ électrique et ses produits de dégradation dans les effluents issus du traitement du cuir	**133**
Gabriela MACOVESCU **Ciprian CHELARU** **Mădălina Georgiana ALBU KAYA** **Luminiţa ALBU**	Determination of hydroxyproline in collagen biomaterials for medical use and validation of method	Determinarea hidroxiprolinei din biomaterialele colagenice pentru uz medical şi validarea metodei	La détermination de l'hydroxyproline dans les biomatériaux de collagène pour utilisation médicale et la validation de la méthode	**147**
	European Research Area	Spaţiul european al cercetării	Espace Européen de la Recherche	**163**
	National and International Events	Evenimente interne şi internaţionale	Evénements nationaux et internationaux	**173**
	Useful information	Informaţii utile	Informations utiles	**177**

FEATURES OF PLANTAR PRESSURE DISTRIBUTION OF CHILDREN WITH SPASTIC DIPLEGIA

CARACTERISTICILE DISTRIBUŢIEI PRESIUNII PLANTARE LA COPIII CU DIPLEGIE SPASTICĂ

Weijuan ZHANG[1], Bo XU[2], Jin ZHOU[2], Baozhen CHENG[1*]

[1]Tianjin University of Science & Technology, Tianjin, China, zhang_weijuan@163.com

[2]National Engineering Laboratory for Clean Technology of Leather Manufacture, Sichuan University, Chengdu, P. R. China

FEATURES OF PLANTAR PRESSURE DISTRIBUTION OF CHILDREN WITH SPASTIC DIPLEGIA

ABSTRACT. The aim of this study was to investigate the features of plantar pressure distribution of children with spastic diplegia. Totally, 18 spastic diplegia children (SDCP) and 36 typical developed counterparts (TD) with matching age, height and weight were recruited. Their plantar pressure distributions were measured and analyzed. Three-masks model was first used to divide the foot regions: forefoot, midfoot and hindfoot, then the relative contact time (CTrel) (%), peak pressure (PP) (N/cm^2), relative pressure time integral (PTIrel) (%) and relative contact area (CA) (%) were calculated. Our outcomes show that pressure variables were significantly higher than those of TD in most regions, with the exception of PP; further, a prolonged first PP curve was obtained for SDCP in the double support phase. At last, all data of SDCP were moderate for the most of variables and regions. Thereby, features of SDCP children are shown below: no bimodal pressure curve was obtained and they usually performed with valgus deformities, so that midfoot was used as a major loading area.

KEY WORDS: plantar pressure distribution, spastic diplegia, cerebral palsy, typical developed children

CARACTERISTICILE DISTRIBUŢIEI PRESIUNII PLANTARE LA COPIII CU DIPLEGIE SPASTICĂ

REZUMAT. Scopul acestui studiu a fost de a investiga caracteristicile distribuţiei presiunii plantare la copiii cu diplegie spastică. S-au recrutat în total 18 copii cu diplegie spastică (PC) şi 36 copii cu dezvoltare normală (TD), cu vârstă, înălţime şi greutate similare. S-a măsurat şi analizat distribuţia presiunii plantare. Mai întâi s-a utilizat modelul cu trei zone de analiză pentru a împărţi regiunile piciorului în: antepicior, zona centrală şi retropicior, apoi s-au calculat timpul de contact relativ (CTrel) (%), presiunea maximă (PP) (N/cm^2), integrala relativă presiune-timp (PTIrel) (%) şi zona de contact relativă (CA) (%). Rezultatele arată că variabilele de presiune au fost semnificativ mai mari decât cele ale grupei TD în majoritatea regiunilor, cu excepţia PP; mai mult, s-a obţinut o primă curbă PP prelungită pentru grupa PC în faza de sprijin dublu. În cele din urmă, toate datele obţinute pentru grupa PC au fost moderate pentru majoritatea variabilelor şi regiunilor. Astfel, caracteristicile subiecţilor cu PC sunt următoarele: la copiii cu PC nu s-a obţinut o curbă de presiune bimodală şi, în general, aceştia au prezentat deformări de tip valgus, astfel încât cea mai mare presiune s-a constatat în regiunea MF.

CUVINTE CHEIE: distribuţia presiunii plantare, diplegie spastică, paralizie cerebrală, copii cu dezvoltare normală

LES CARACTÉRISTIQUES DE RÉPARTITION DE LA PRESSION PLANTAIRE CHEZ LES ENFANTS AVEC DIPLÉGIE SPASTIQUE

RÉSUMÉ. Le but de cette étude a été d'étudier les caractéristiques de la répartition des pressions plantaires chez les enfants avec diplégie spastique. On a sélectionné 18 enfants avec diplégie spastique (SDCP) et 36 enfants développés normalement (TD) avec l'âge, le poids et la taille similaires. On a mesuré et analysé la répartition de la pression plantaire. On a utilisé d'abord le modèle à trois régions d'analyse pour répartir les régions du pied: l'avant-pied, le mi-pied et l'arrière-pied, puis on a calculé le temps de contact relatif (CTrel) (%), la pression maximale (PP) (N/cm^2), l'intégrale relative pression-temps (PTIrel) (%) et la zone de contact relative (CA) (%). Les résultats montrent que les variables de pression ont été significativement plus élevées que celles de TD dans la plupart des régions, à l'exception du PP; en outre, une première courbe PP prolongée a été obtenue pour SDCP dans la phase de double appui. Enfin, toutes les données de SDCP ont été modérées pour la plupart des variables et des régions. Ainsi, les caractéristiques des sujets avec SDCP sont: il n'y a pas une courbe de pression bimodale chez les enfants avec SDCP et ils ont généralement montré des déformations de valgus, de telle sorte que la plus grande pression a été trouvée dans la région MF.

MOTS CLÉS: répartition de la pression plantaire, diplégie spastique, paralysie cérébrale, enfants développés normalement

INTRODUCTION

Cerebral palsy (CP) is caused by a non-progressive brain damage which occurs between pre-birth and the infant period of after birth and it leads to a series of muscle spastics, abnormal gaits and foot deformities [1], which are the direct causes of foot ulceration, fractures and even death [2, 3]. Therefore, before developing strategies of ulcer prevention and pressure

INTRODUCERE

Paralizia cerebrală (PC) este cauzată de leziuni non-progresive ale creierului care apar între perioada prenatală şi perioada de după naştere şi duce la o serie de spasme musculare, tulburări de mers şi deformări ale picioarelor [1], care la rândul lor sunt cauzele directe ale ulceraţiilor la nivelul piciorului şi ale fracturilor, ducând chiar până la deces [2, 3]. Prin urmare, înainte de a dezvolta strategii de prevenire a

* *Correspondence to: Baozhen CHENG, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin, China, chbzh@tust.edu.cn*

relieving, investigation of their features of plantar pressure was critical.

Currently, literature concerning foot biomechanics of healthy children is widely reported and outcomes show that fat pad existed in the early age of toddlers and this structure alleviated the peak pressure and protected the safety of feet [4]; while, as the foot arch formed around the age of six, loading was shifting anterior and posterior and a sharp increase of plantar pressure was primarily found at fore and hind foot [5]; further, with the age increasing, walking stability improved dramatically and a typical bimodal [6] pressure curve was observed [6]; finally, body weight, as well as characteristics of pressure distribution were similar with those of adults. In contrast with typical developed children (TD), those with CP usually exhibit poor motion control [7] and a random gait pattern. According to the pressure curve drawn by Li Hai *et al.* [8], a unimodal or asymmetrical bimodal curve was usually observed in CP patients; moreover, they also studied plantar pressure distribution of those subjects and they concluded that CP children had a longer contact time during double support phases, a higher relative impulse and a larger relative contact area. Kedem and Scher [9] systematically reviewed the feet deformities in CP population and they summarized that equinus, valgus and varus feet were the types commonly seen; in addition, their outcomes indicated that equinus led to a higher pressure at forefoot; while varus and valgus made the mid foot contact directly with the ground, at which pressure increased significantly. Maurer's [10] and Yi's [11] research further confirmed the above findings. However, subjects of the above studies included several types of cerebral palsy, such as spastic hemiplegia and diplegia etc. In terms of spastic diplegia, an abnormal but symmetrical gait on each lower limb could be obtained and according to the study of plantar pressure distribution of this CP type, the influence of CP on the children's gait could be comprehended. Unfortunately, seldom were investigations carried out concerning these issues.

Hence, the aim of this study was to investigate features of plantar pressure distribution of children with spastic diplegia. Based on current knowledge, hypotheses were proposed: (1) a unimodal pressure

ulceraţiilor şi de reducere a presiunii, este necesară o investigaţie a caracteristicilor presiunii plantare.

În prezent, literatura de specialitate raportează multe studii în domeniul biomecanicii piciorului la copiii sănătoşi, ale căror rezultate arată că existenţa unui strat de grăsime la copiii mici care a atenuat presiunea maximă şi a contribuit la siguranţa piciorului [4]; pe măsură ce se formează bolta piciorului, în jurul vârstei de şase ani, presiunea se deplasează în direcţiile anterioară şi posterioară şi se constată o creştere bruscă a presiunii plantare mai ales la antepicior şi la retropicior [5]; mai mult, odată cu înaintarea în vârstă, stabilitatea mersului se îmbunătăţeşte dramatic şi se observă o curbă bimodală tipică a presiunii [6]; în cele din urmă greutatea corporală, precum şi caracteristicile distribuţiei presiunii au fost similare celor ale adulţilor. Spre deosebire de copiii cu dezvoltare normală (TD), cei cu PC au prezentat un control redus al mişcării [7] şi un tipar aleatoriu de mers. Conform curbelor de presiune trasate de Li Hai şi colab. [8], la pacienţii cu PC se observă de obicei o curbă unimodală sau una bimodală asimetrică; mai mult decât atât, aceştia au studiat şi distribuţia presiunii plantare la acei subiecţi şi au ajuns la concluzia că pacienţii cu PC au prezentat un timp de contact mai lung în timpul fazelor de sprijin dublu, un impuls relativ mai mare şi o suprafaţă de contact relativ mai mare. Kedem şi Scher [9] au studiat sistematic deformările picioarelor la subiecţi cu PC şi au raportat prezenţa deformărilor de tip varus equin, valgus şi varus; în plus, rezultatele au indicat faptul că deformarea de tip equin a dus la o presiune mai mare în zona antepiciorului, iar deformările în varus şi valgus au dus la contactul direct al piciorului median cu solul, presiunea crescând semnificativ în această zonă. Cercetările lui Maurer [10] şi Yi [11] au confirmat rezultatele de mai sus. Cu toate acestea, subiecţii care au participat la studiile menţionate au avut diferite tipuri de paralizie cerebrală, cum ar fi hemiplegia sau diplegia spastică etc. În ceea ce priveşte diplegia spastică, se obţine un mers anormal, dar simetric, la ambele membre inferioare şi pe baza studiului distribuţiei presiunii plantare la subiecţii cu acest tip de PC, se poate înţelege influenţa PC asupra mersului copiilor. Din păcate, investigaţii asupra acestor probleme s-au făcut rareori.

Prin urmare, scopul acestui studiu a fost de a investiga caracteristicile distribuţiei presiunii plantare la copiii cu diplegie spastică. Pe baza cunoştinţelor actuale, s-au propus următoarele ipoteze: (1) obţinerea

curve would be found for CP group; (2) significant differences would be seen between CP and TD in each pressure variable and in most regions.

unei curbe de presiune unimodale pentru grupa PC; (2) diferenţe semnificative între PC şi TD în ceea ce priveşte toate variabilele de presiune şi în majoritatea regiunilor.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

Totally, 18 spastic diplegia children (SDCP) and 36 typical developed counterparts (TD) with matching age, height and weight were recruited. The inclusion criteria are shown below: (1) Gross Motor Function Classification System (GMFCS) less than 3, which was evaluated by an experienced clinician; (2) walking independently without support including orthopedic instruments; (3) cooperating in the whole test and completing all the measurements; (4) at least 5 trails being successfully recorded. Subjects' demographic information is given in Table 1. The aims and methods of this test were first explained to patients' parents and a formal approval was obtained before the test. Furthermore, the ethics committee of the university approved this study and all procedures followed the principles of Helsinki Declaration.

MATERIALE ŞI METODE

Subiecţi

S-au recrutat în total 18 copii cu diplegie spastică (SDCP) şi 36 de copii cu dezvoltare normală (TD) cu vârstă, înălţime şi greutate similare. Criteriile de includere au fost următoarele: (1) gradul de clasificare a funcţiei motorii grosiere (GMFCS) mai mic decât 3, evaluat de către un clinician cu experienţă; (2) capacitatea de a merge în mod independent, fără sprijin, inclusiv fără instrumente ortopedice; (3) cooperarea pe tot parcursul testului şi finalizarea tuturor măsurătorilor; (4) înregistrarea cu succes a cel puţin 5 trasee. Datele demografice ale subiecţilor sunt prezentate în Tabelul 1. Obiectivele şi metodele acestui test au fost explicate în primul rând părinţilor pacienţilor şi s-a obţinut o aprobare oficială din partea acestora înainte de testare. Mai mult decât atât, acest studiu a fost aprobat de către comitetul de etică al Universităţii şi toate procedurile au respectat principiile declaraţiei de la Helsinki.

Table 1: Demographic information of subjects
Tabelul 1: Datele demografice ale subiecţilor

	TD *Dezvoltare normală*	SDCP *Diplegie spastică*
N	36	18
Age *Vârstă*	6.4±2.4	6.6±3.0
Gender *Sex*	M=18 F=18	M=12 F=6
Height (m) *Înălţime (m)*	1.1±1.7	1.1±1.6
Weight (kg) *Greutate (kg)*	22.8±7.7	21.2±7.7
BMI *IMC*	16.8±2.4	17.0±3.5
GMFCS	None *Niciunul*	Level I = 4 *Nivelul I = 4* Level II = 8 *Nivelul II = 8* Level III = 6 *Nivelul III = 6*

Pressure Measurement

Children's plantar pressure was measured by Footscan pressure plate (one meter plate, RSscan Int., Belgium). The scanning frequency of this system is 250 Hz, pressure sensor density is 4 N/cm^2, and the range of measure is 0-200 N/cm^2. A two-step initial protocol was performed by the children and they were guided to walk with their selected speed on the pressure plate which was located in the middle of a six-meter-long track. Before the measurement, the system was calibrated; and then three to five minutes warm up was provided. At least five successful measures for each side of the foot were also required.

Data Processing

Three-masks model was regrouped and plantar regions were redefined as: forefoot area (including five toes and five metatarsals), midfoot area and hind foot (including medial and lateral heel), under which parameters of contact time (ms), peak pressure (N/cm^2), pressure time integral (S*N/cm^2) and contact area (cm^2) were calculated. In order to compare within groups, a normalization processing was carried out for contact time (CTrel) (according to Equation (1)), contact area (CArel) (according to Equation (2)) and pressure-time integral (PTIrel) (according to Equation (3)):

Măsurarea presiunii

Presiunea plantară a copiilor a fost măsurată utilizând platforma de presiune Footscan (placă de un metru, RSscan Int., Belgia). Frecvenţa de scanare a acestui sistem este de 250 Hz, densitatea senzorului de presiune este de 4 N/cm^2, iar gama de măsurare este 0-200 N/cm^2. Copiii au urmat un protocol iniţial în două etape şi au fost îndrumaţi să meargă cu o viteză la alegere pe placa de presiune, care a fost poziţionată în mijlocul unei piste de şase metri lungime. Înainte de măsurare, sistemul a fost calibrat, apoi s-au alocat trei până la cinci minute de încălzire. De asemenea, a fost nevoie de cel puţin cinci măsurători reuşite pentru fiecare parte a piciorului.

Prelucrarea datelor

S-a utilizat modelul cu trei zone de analiză, iar regiunile plantare au fost redefinite după cum urmează: zona antepiciorului (inclusiv cele cinci degete şi cele cinci metatarsiene), zona centrală şi zona retropiciorului (inclusiv părţile mediană şi laterală ale călcâiului), în care s-au calculat parametri precum timpul de contact (ms), presiunea maximă (N/cm^2), integrala presiune-timp (S*N/cm^2) şi zona de contact (cm^2). Pentru a face comparaţii între grupe, s-a efectuat o normalizare pentru timpul de contact (CTrel) (conform ecuaţiei (1)), zona de contact (CArel) (conform ecuaţiei (2)) şi integrala presiune-timp (PTIrel) (conform ecuaţiei (3)):

$$\text{Ctrel} = 100\% \times \text{contact time (Xi)} / \sum \text{contact time (Xi)} \tag{1}$$

$$\textit{CTrel} = 100\% \times \textit{timp de contact (Xi)} / \sum \textit{timp de contact (Xi)}$$

$$\text{Carel} = 100\% \times \text{contact area (Xi)} / \sum \text{contact area (Xi)} \tag{2}$$

$$\textit{CArel} = 100\% \times \textit{zona de contact (Xi)} / \sum \textit{zona de contact (Xi)}$$

$$\text{PTIrel} = 100\% \times \text{pressure time integral (Xi)} / \sum \text{pressure time integral (Xi)} \tag{3}$$

$$\textit{PTIrel} = 100\% \times \textit{integrala presiune-timp (Xi)} / \sum \textit{integrala presiune-timp (Xi)}$$

where Xi indicates one of the plantar regions.

unde Xi indică una dintre regiunile plantare.

Statistical Analysis

First of all, One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test showed that all data resulted in this study followed the normal distribution; then results of independent T test verified that no significant differences existed, so that data of both feet were combined for analysis.

Analiza statistică

Mai întâi, testul Kolmogorov-Smirnov cu un eşantion a arătat că toate datele testate au urmat distribuţia normală; apoi rezultatele testului t independent au confirmat că nu au existat diferenţe semnificative, astfel încât s-au combinat pentru analiză

Differences between the SDCP and TD were explored by independent T test. In order to compare the variance between SDCP and TD in terms of the trajectories of sum force during the whole gait cycle, coordination of force points of SDCP and TD were filtered and normalized into 100 points' modified gait cycle (MGC). At last, reliability was evaluated for each variable under each region. Suggested by Hopkins [12], typical error and re-test reliability needed to be calculated, where the typical error needed to be normalized in order to compare within groups. Then the coefficient of variance (CoV) was calculated by dividing the typical error by mean value of the group. Test-retest reliability was evaluated by intraclass correlation coefficient (ICC). The ICC's evaluation standard is: ICC < 0.5, poor reliability; 0.5 < ICC < 0.75, medium reliability; ICC > 0.75, good reliability. All the statistical models were operated under SPSS (16.0 V, SPSS Inc., Chicago, USA) with a significance level of 0.05 and 95% confidence interval.

datele ambelor picioare. Diferenţele dintre grupele SDCP şi TD au fost explorate prin testul t independent. Pentru a compara variaţia dintre SDCP şi TD în ceea ce priveşte traiectoriile forţelor pe parcursul întregului ciclu de mers, punctele de forţă ale SDCP şi TD au fost filtrate şi normalizate la ciclul de mers modificat de 100 de puncte (MGC). În cele din urmă, s-a evaluat fiabilitatea fiecărei variabile în fiecare regiune. După cum sugerează Hopkins [12], a fost necesară calcularea erorii tipice şi a fiabilităţii retestării, unde eroarea tipică trebuia normalizată pentru a face comparaţii în cadrul grupelor. Apoi s-a calculat coeficientul de variaţie (CoV) prin împărţirea erorii tipice la valoarea medie a grupului. Fiabilitatea testare-retestare a fost evaluată prin coeficientul de corelaţie intra-clasă (ICC). Standardul de evaluare al ICC este: ICC < 0,5, fiabilitate slabă; 0,5 < ICC < 0,75, fiabilitate medie; ICC > 0.75, fiabilitate bună. Toate modelele statistice au fost prelucrate cu software-ul SPSS (v. 16.0, SPSS Inc., Chicago, SUA), cu nivel de semnificaţie de 0,05 şi interval de încredere de 95%.

RESULTS

Trajectory of forces during MGC showed that a unimodal and a similar bimodal pressure curve were found for SDCP and TD, respectively. Whereas, in contrast with TD whose first peak of curve occurred at 30% MGC, that of SDCP was observed at around 50% MGC (Figure 1).

REZULTATE

Traiectoria forţelor în timpul ciclului de mers modificat a indicat o curbă de presiune unimodală şi una similară bimodală pentru SDCP, respectiv TD. Spre deosebire de grupa TD, la care maximul curbei a apărut la 30% din MGC, la grupa SDCP, acesta s-a observat la aproximativ 50% din MGC (Figura 1).

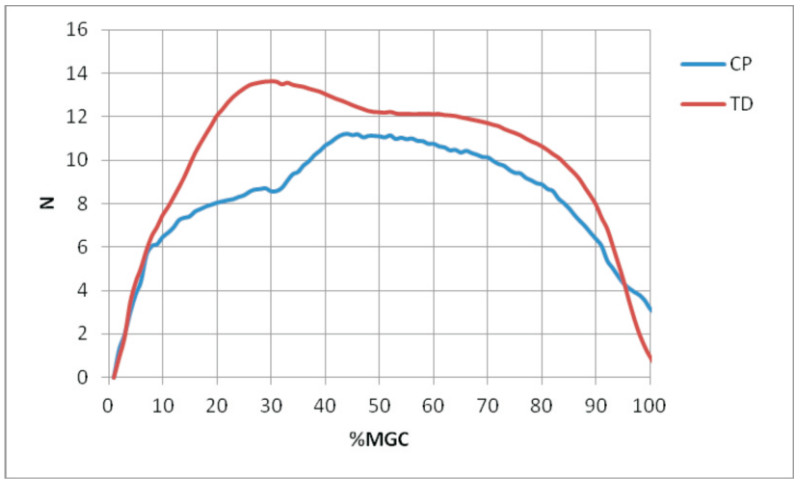


Figure 1. Trajectory of force during the modified gait cycle of SDCP and TD
Figura 1. Traiectoria forţei în timpul ciclului de mers modificat la copiii cu PC şi la cei cu dezvoltare normală

Contact time of SDCP under forefoot and midfoot was significantly longer than that of TD (p = 0.000 for forefoot, p = 0.026 for midfoot); meanwhile PTIrel of SDCP was obviously higher than that of TD in each region (p = 0.000 for forefoot, p = 0.010 for midfoot, p = 0.000 for hindfoot). Otherwise, PP of SDCP was significantly lower than that of TD (p = 0.000 for forefoot, p = 0.000 for midfoot, p = 0.000 for hindfoot); except for midfoot, CArel at forefoot and hindfoot areas was significantly different between SDCP and TD (p = 0.000 for forefoot, p = 0.001 for hindfoot), see Table 2.

Timpul de contact la grupa SDCP în zonele antepicior şi mediană a fost semnificativ mai lung decât la grupa TD (p = 0,000 pentru antepicior, p = 0,026 pentru zona mediană), iar PTIrel la grupa SDCP a fost în mod clar mai mare decât la grupa TD în toate regiunile (p = 0,000 pentru antepicior, p = 0,010 pentru zona mediană, p = 0,000 pentru HF). În contrast, PP la grupa SDCP a fost semnificativ mai mică decât la grupa TD (p = 0,000 pentru antepicior, p = 0,000 pentru zona mediană, p = 0,000 pentru retropicior); cu excepţia regiunii zona mediană, au existat diferenţe semnificative în ceea ce priveşte CArel în regiunile antepicior şi retropicior între grupele SDCP şi TD (p = 0,000 pentru antepicior, p = 0,001 pentru retropicior), a se vedea Tabelul 2.

Table 2: Independent T test of pressure variables between CP and TD in each foot region
Tabelul 2: Testul t independent al variabilelor de presiune la copiii cu PC
şi la cei cu dezvoltare normală în fiecare regiune a piciorului

Regions *Regiuni*	Variables *Variabile*	Groups *Grupe*	N	Mean *Medie*	Std. Deviation *Abatere standard*	Mean Difference *Diferenţă medie*	sig.	Lower bound *Limita inferioară*	Upper bound *Limita superioară*
Forefoot *Antepicior*	CTrel	SDCP	40	52.9%	11.48	9.1%	0.000**	6.2%	11.9%
		TD	80	43.8%	4.21			5.3%	12.9%
	PP	SDCP	40	3.01	0.93	-1.56	0.000**	-1.97	-1.16
		TD	80	4.58	1.11			-1.95	-1.18
	PTIrel	SDCP	40	59.1%	20.89	20.0%	0.000**	14.9%	25.2%
		TD	80	39.0%	7.65			13.2%	26.9%
	CArel	SDCP	40	64.7%	10.24	9.4%	0.000**	6.7%	12.1%
		TD	80	55.2%	4.65			6.0%	12.8%
Midfoot *Zona mediană*	CTrel	SDCP	40	32.6%	7.58	2.8%	0.026*	1.0%	4.7%
		TD	80	29.8%	2.33			0.4%	5.3%
	PP	SDCP	40	3.03	1.30	-1.03	0.000**	-1.43	-0.64
		TD	80	4.06	0.87			-1.48	-0.58
	PTIrel	SDCP	40	32.3%	18.59	8.2%	0.010*	3.7%	12.7%
		TD	80	24.1%	5.77			2.1%	14.2%
	CArel	SDCP	40	32.5%	13.11	3.6%	0.097	0.5%	6.8%
		TD	80	28.9%	3.99			-0.7%	7.9%
Hindfoot *Retropicior*	CTrel	SDCP	40	28.6%	9.58	2.3%	0.153	-0.1%	4.6%
		TD	80	26.4^%	3.05			-0.9%	5.4%
	PP	SDCP	40	3.29	2.35	-3.65	0.000**	-4.43	-2.88
		TD	80	6.94	1.83			-4.50	-2.81

Table 2: Continued
Tabelul 2: Continuare

Regions *Regiuni*	Variables *Variabile*	Groups *Grupe*	N	Mean *Medie*	Std. Deviation *Abatere standard*	Mean Difference *Diferenţă medie*	sig.	Lower bound *Limita inferioară*	Upper bound *Limita superioară*
Forefoot *Antepicior*	PTIrel	SDCP	40	22.4%	15.37	-14.5%	0.000**	-19.0%	-10.0%
		TD	80	36.9%	9.46			-19.8%	-9.2%
	CArel	SDCP	40	13.0%	4.87	-2.9%	0.001**	-4.6%	-1.2%
		TD	80	15.9%	4.37			-4.7%	-1.1%

* Indicated the differences were significantly lower than 0.05;
** Diferenţele au fost semnificativ mai mici decât 0,05;*
** Indicated the differences were significantly lower than 0.001;
*** Diferenţele au fost semnificativ mai mici decât 0,001;*
α was the abbreviation of relative contact time;
α este abrevierea timpului de contact relativ;
β was the abbreviation of peak pressure;
β este abrevierea presiunii maxime;
γ was the abbreviation of relative pressure time integral;
γ este abrevierea integralei presiune-timp;
δ was the abbreviation of relative of contact area.
δ este abrevierea zonei relative de contact.

In terms of SDCP, outcomes of five measurements showed that ICC of CArel was the highest (ICC=0.990, CoV=9.4%, p=0.000), then was the PP (ICC=0.760, CoV=48.9%, p=0.000) and the PTIrel (ICC=0.714, CoV=44.5%, p=0.000); whereas, CP also displayed that with exception of ICC of CArel under each region being higher than 0.8 (p=0.000), that of PP and PTIrel proved to be forefoot < hindfoot < midfoot; meanwhile CoV of those two variables were higher than 50%, particularly in the hindfoot area. Similar outcomes were observed at TD group, where reliability sequences were CArel (ICC=0.994, CoV=9.4%, p=0.000) > PTIrel (ICC=0.900, CoV=23.3%, p=0.000) > PP (ICC=0.880, CoV=23.9%, p=0.000).

DISCUSSION

In this study, plantar pressure distribution of 18 SDCP and 36 TD with matching age, height and weight was measured and analyzed. Pressure variables were compared between SDCP and TD and then within three types of gait. The outcomes show that significant differences of each variables existed between SDCP and TD; besides, a prolonged first peak of pressure curve was obtained for SDCP in the double support phase. At last, all data of SDCP were proved to be moderate for most variables and regions.

În ceea ce priveşte grupa SDCP, rezultatele a cinci măsurători au indicat că ICC al CArel a avut valoarea cea mai mare (ICC = 0,990, CoV = 9,4%, p = 0,000), urmat de PP (ICC = 0,760, CoV = 48,9%, p = 0,000) şi PTIrel (ICC = 0,714, CoV = 44,5%, p = 0,000); o situaţie similară se întâlneşte şi în cazul copiilor cu PC, cu excepţia faptului că ICC al CArel în fiecare regiune a fost mai mare decât 0,8 (p = 0,000), valorile PP şi PTIrel au urmat secvenţa antepicior < retropicior < zona mediană, iar valoarea CoV a celor două variabile a depăşit 50%, mai ales în regiunea retropiciorului. Rezultate similare s-au observat şi la grupa TD, unde secvenţa fiabilităţii a fost CArel (ICC = 0,994, CoV = 9,4%, p = 0,000) > PTIrel (ICC = 0,900, CoV = 23,3%, p = 0,000) > PP (ICC = 0,880, CoV = 23,9%, p = 0,000).

DISCUŢII

În acest studiu, s-a măsurat şi analizat distribuţia presiunii plantare la 18 subiecţi cu diplegie spastică şi 36 de subiecţi cu dezvoltare normală, cu vârstă, înălţime şi greutate similare. S-au comparat variabilele de presiune obţinute pentru grupele PC şi TD şi pentru cele trei tipuri de mers. Rezultatele arată că au existat diferenţe semnificative la fiecare variabilă, la ambele grupe; în plus, s-a obţinut un punct maxim prelungit al curbei de presiune la grupa PC în timpul fazei de sprijin dublu. În cele din urmă, s-a confirmat că toate datele obţinute pentru grupa PC au fost moderate pentru majoritatea variabilelor şi regiunilor.

Bosch *et al.* [6] indicated that pressure under midfoot was attenuated as the foot arch formed at the age of six for TD group. Moreover, regarding TD with foot valgus, outcomes of Yi and Wang [11] suggested that significant differences were found between the valgus and normal ones in terms of relative contact area of each region, relative contact time and relative impulse. In terms of CP, current literature [1-4, 7, 8] showed that as the abnormal muscle force generated in the CP population, lower limb control became a difficult action for them, thereby, they adopted the strategies of prolonging contact time, so that gait stability could be promoted. Maurer *et al.* [10] divided gait types of CP into footflat, varus and valgus. By considering the plantar pressure distribution, they found that a higher pressure was obtained at medial midfoot for valgus, accompanied by a forefoot rotated outwards. They further suggested that, unlike the TD child, whose body was in a status of dynamic imbalance and it became stable in the double stance phase, because of the weakened lower limbs muscles, centre of body gravity was lowered in the SDCP children and more time was consumed in the period of double stance phase in order to recover the situation of balance [13]. In contrast, TD showed that after a short period of heel valgus, COP moved fast towards lateral side and finally became valgus in toe off, where its tendency was confirmed in the study of Zhou *et al.* [14].

Outcomes of our study were consistent with the above ones. In terms of pressure distribution, we found that the peak of pressure curve of SDCP was seen at 50% MGC, during the period of double support phase; moreover, a longer CTrel and a higher PTIrel were found under midfoot. These two phenomena implied that a severe valgus of CP occurred for both feet and their performances were consistent with Li's report [8]: according to the strategies of increasing the CT or CA, gait stability could be promoted. Nevertheless, the values of PP of SDCP in all three regions were significantly lower than those of TD; this could be explained by the fact that spastic muscles have led to an abnormal gait and made the feet in a lifted strike [15, 16], which indicated that not all body weight was loaded on the

Bosch şi colab. [6] au indicat că presiunea în zona mediană s-a atenuat pe măsură ce s-a format bolta piciorului, până la vârsta de şase ani pentru grupa TD. Mai mult decât atât, în ceea ce priveşte subiecţii TD cu deformare de tip valgus, rezultatele lui Yi şi Wang [11] au sugerat existenţa unor diferenţe semnificative între cei cu deformare de tip valgus şi cei cu picioare normale în ceea ce priveşte zona de contact relativă în fiecare regiune, timpul de contact relativ şi impulsul relativ. Referitor la subiecţii cu PC, studii actuale [1-4, 7, 8] arată că generarea unei forţe musculare anormale la subiecţii cu PC îngreunează controlul membrelor inferioare şi, prin urmare, aceştia adoptă strategia de a prelungi timpul de contact, pentru a facilita stabilitatea mersului. Maurer şi colab. [10] au împărţit tipurile de mers la subiecţii cu PC în mers cu contact total al piciorului pe sol, mers cu deformări de tip varus şi valgus. Analizând distribuţia presiunii plantare, au constatat o presiune mai mare în zona centrală mediană pentru deformarea de tip valgus, însoţită de o rotire a antepiciorului spre exterior. Aceştia au mai sugerat că, spre deosebire de copiii cu dezvoltare normală, al căror corp se află în dezechilibru dinamic şi devine stabil în faza de sprijin dublu, din cauza muşchilor slăbiţi la nivelul membrelor inferioare, centrul de greutate al corpului s-a situat mai jos la copiii cu PC şi s-a consumat mai mult timp în faza de sprijin dublu pentru a redobândi echilibrul [13]. În contrast, la grupa TD s-a observat că după o scurtă perioadă de poziţionare a călcâiului în valgus, centrul de presiune s-a deplasat rapid în lateral şi s-a poziţionat în valgus la desprinderea degetelor, această tendinţă fiind confirmată în studiul lui Zhou şi colab. [14].

Rezultatele studiului nostru au fost în conformitate cu cele de mai sus. În ceea ce priveşte distribuţia presiunii, s-a constatat că maximul curbei de presiune la grupa PC a avut loc la 50% din MGC, în timpul fazei de sprijin dublu; mai mult decât atât, s-au constatat CTrel şi PTIrel mai lungi în zona mediană. Aceste două fenomene au implicat o deformare severă în valgus la ambele picioare ale subiecţilor cu PC, iar performanţele lor au fost în acord cu raportul lui Li [8]: s-au adoptat strategiile de a mări CT sau CA pentru a facilita stabilitatea mersului. Totuşi, valoarea PP la grupa PC în toate cele trei regiuni a fost semnificativ mai mică decât la grupa TD, acest fapt fiind pus pe seama spasmelor musculare; mersul anormal a dus la un contact al piciorului cu solul mai puţin accentuat [15, 16], ceea ce a indicat că picioarele nu au suportat în

feet. Hence, our first and second hypotheses were proved.

At last, in terms of SDCP, our results indicated that the best reliable data were obtained for CArel in all three areas; while the reliability of PP and PTIrel under heel and forefoot were moderate to poor and this might be caused by the unstable gait patterns. Although ICC and CoV of SDCP varied within various regions, 44.4% ICC items were larger than 0.75, 33.3% of those were between 0.5-0.75; 77.8% CoV items were lower than 50%. Thereby, a reasonable reliability was approved for SDCP.

Although positive outcomes were obtained, limitations still existed and need to be comprehended with caution: 1) subjects were asked to walk with their own selected speed and the factor of speed was potentially correlated with PP and PTIrel; 2) a small sample strategy was adopted in this study. Further medical application was suggested since the SDCP patients were lacking the first heel rocker, which would reduce the ankle plantar flexion and knee flexion, making the single leg support unstable, procedure of orthotics design and a rigid joint would be considered in order to stimulate the foot ankle in a dorsiflexion status and increase the extent of the heel contact. Another suggestion of our study was that the plantar pressure measurement was a reliable and repeatable protocol in the research of patients such as cerebral palsy and so on.

totalitate greutatea corpului. Prin urmare, s-au confirmat prima şi a doua ipoteză.

În cele din urmă, în ceea ce priveşte grupa PC, rezultatele noastre au indicat că datele cele mai fiabile au fost obţinute pentru CArel în toate cele trei regiuni, în timp ce fiabilitatea PP şi PTIrel în regiunile călcâiului şi antepiciorului a fost moderată până la slabă, fapt ce poate fi cauzat de tiparele de mers instabil. Deşi ICC şi CoV la grupa PC au variat în diferite regiuni, 44,4% din valorile ICC au fost mai mari decât 0,75, 33,3% s-au încadrat între 0,5 şi 0,75, iar 77,8% din valorile CoV au fost mai mici decât 50%. Prin urmare, s-a atribuit o fiabilitate rezonabilă grupei PC.

Deşi s-au obţinut rezultate pozitive, au existat şi limitări şi acestea trebuie să fie luate în considerare cu precauţie: 1) subiecţii au fost rugaţi să meargă cu o viteză la alegere, iar factorul de viteză a fost potenţial corelat cu PP şi PTIrel; 2) în acest studiu s-a adoptat o strategie pentru un eşantion mic. S-au sugerat aplicaţii medicale suplimentare, deoarece la pacienţii SDCP lipseşte prima perioadă a fazei de păşire, ceea ce reduce flexia plantară şi flexia genunchiului, ducând la un sprijin unipodal instabil, trebuind să se ia în considerare o procedură de proiectare a ortezelor şi o articulaţie rigidă pentru a stimula flexia dorsală a gleznei şi pentru a creşte gradul de contact al călcâiului cu solul. Studiul nostru a sugerat că măsurarea presiunii plantare a reprezentat un protocol repetabil şi de încredere în studierea pacienţilor cu paralizie cerebrală şi alte afecţiuni.

CONCLUSION

Overall, features of plantar pressure distribution of SDCP are shown below: no bimodal pressure curve was obtained for SDCP children and they usually performed with valgus deformities, so that midfoot was used as a major loading area.

CONCLUZII

Per ansamblu, caracteristicile distribuţiei presiunii plantare la subiecţii cu PC au fost următoarele: la copiii cu PC nu s-au obţinut curbe de presiune bimodală şi, în general, aceştia au prezentat deformări de tip valgus, astfel încât cea mai mare presiune s-a constatat în zona mediană.

REFERENCES

1. Sorsdahl, A.B., Moe-Nilssen, R., Strand, L.I., *Gait Posture*, **2008**, 27, 43–50.
2. Boldingh, E.J.K., Jacobs-van der Bruggen, M., Bos, C.F.A., Lankhorst, G.J., Bouter, L.M., *J Pediatr Orthop*, Part B, **2007**, 16, 1, 31-34.
3. Stasikelis, P.J., Lee, D.D., Sullivan, C.M., *J Pediatr Orthop*, **1999**, 19, 2, 207-210.

4. Bosch, K., Gerss, J., Rosenbaum, D., *Gait Posture*, **2007**, 26, 2, 238-247.
5. Hallemans, A., D'Août, K., De Clercq, D., Aerts, P., *Foot Ankle Int*, **2003**, 24, 5, 444-453.
6. Bosch, K., Gerss, J., Rosenbaum, D., *Gait Posture*, **2010**, 32, 4, 564-71.
7. Davies, B.L., Kurz, M.J., *Res Dev Disabil*, **2013**, 34, 11, 3648-3653.
8. Li, H., Zhou, A.Y., Huang, D.F., Ding, J.X., Jiang, Q., Yin, Y.D., *Chinese Journal of Rehabilitation Medicine*, **2007**, 22, 1, 44-47.
9. Kedem, P., Scher, D.M., *Curr Opin Pediatr*, **2015**, 27, 1, 67-74.
10. Maurer, J.D., Ward, V., Mayson, T.A., Davies, K.R., Alvarez, C.M., Beauchamp, R.D., Black, A.H., *Gait Posture*, **2014**, 39, 1, 1-6.
11. Liu, Y., Wu, J.X., *Anhui Medical Journal*, **2011**, 32, 1, 1-4.
12. Hopkins, W.G., *Sports Med*, **2000**, 30, 1, 1-15.
13. Zhou, J., Li, T., Xu, B., Chen, W., *Revista de Pielarie Incaltaminte* (*Leather and Footwear Journal*), **2015**, 15, 1, 3-14.
14. Li, T., Li, B., Chen, W., Wu, J., Xu, B., Zhou, J., *Revista de Pielarie Incaltaminte* (*Leather and Footwear Journal*), **2015**, 15, 4, 239-248.
15. Hsue, B.J., Miller, F., Su, F.C., *Gait Posture*, **2009**, 29, 3, 465-470.
16. Hou, X., Wan, Y., Li, C., Yang, X., Fan, Y., Li, Y., *Chinese Journal of Rehabilitation Medicine*, **2010**, 25, 9, 870-874.

Article received/Data primirii articolului: 15.12.2015
Accepted/Acceptat la data: 11.04.2016

COMPARATIVE ANALYSIS OF DYNAMIC PLANTAR PRESSURE DISTRIBUTION ON DIFFERENT AREAS OF THE FOOT

ANALIZA COMPARATIVĂ A DISTRIBUŢIEI PRESIUNILOR PLANTARE ÎN DINAMICĂ PE DIFERITE ZONE ALE PICIORULUI

Mariana COSTEA, Aura MIHAI*

Gheorghe Asachi Technical University of Iasi, 67 Dimitrie Mangeron Blvd., Iasi, Romania, amihai@tex.tuiasi.ro

COMPARATIVE ANALYSIS OF DYNAMIC PLANTAR PRESSURE DISTRIBUTION ON DIFFERENT AREAS OF THE FOOT

ABSTRACT. The plantar distribution between the foot and the contact surface provides valuable information about the foot's structure and functions. The plantar footprints were taken from 60 young women, aged between 20-30 and their foot typology was established by the authors in a previous study. The average values of the plantar pressures recorded on ten foot segments, in case of the four groups: normal foot, high arched foot, flat foot and Hallux-Valgus foot were analyzed in the present study. By comparing the pressures for the four identified groups, it was demonstrated that there are no significant differences between subjects, the maximum values being registered on the third metatarsal head bone, followed by the second metatarsal head bone and the heel. The findings of a Pearson correlation analysis demonstrate that some pressure areas are directly proportional to others (like for example toe areas with first, second, fourth metatarsal head bones and median area of the foot) and other pressure areas are indirectly proportional to others (like for example lateral heel, with second to fifth toe). An important result of the performed analysis is the negative correlation between toe area and the third and fifth metatarsals head bones. Therefore, when creating the footwear bottom components, the designer should use different materials and structures and design in order to redistribute the plantar pressures according to areas of the foot.

KEY WORDS: plantar footprint, gait, pressure areas, footwear

ANALIZA COMPARATIVĂ A DISTRIBUŢIEI PRESIUNILOR PLANTARE ÎN DINAMICĂ PE DIFERITE ZONE ALE PICIORULUI

REZUMAT. Distribuţia presiunii manifestate între talpa piciorului şi planul de sprijin furnizează informaţii valoroase privind structura şi funcţiile piciorului. Într-un studiu anterior autorii au preluat amprentele plantare la un număr de 60 femei, cu vârsta cuprinsă între 20-30 de ani şi au stabilit tipologia piciorului acestora. În cadrul prezentului studiu au fost comparate valorile medii ale presiunilor pe zece segmente al suprafeţei plantare, pentru fiecare din cele 4 grupe: picior normal, picior scobit, picior plat şi picior cu Hallux-Valgus, identificate de autori într-un studiu anterior. Comparând presiunile pentru cele 4 grupe de subiecţi s-a observat că nu există diferenţe semnificative între aceştia, presiunea maximă înregistrându-se de fiecare dată pe metatarsianul al treilea, urmat de metatarsianul al doilea şi călcâi. Printr-o analiză statistică folosind coeficientul de corelaţie Pearson s-a demonstrat că anumite zone de presiune sunt direct proporţionale cu altele (de exemplu zona degetelor cu primul, al doilea şi al patrulea metatarsian, precum şi cu zona mediană a piciorului) şi alte zone de presiune sunt indirect proporţionale cu altele (de exemplu zona exterioară a călcâiului cu degetul cinci). Un rezultat important al acestei analize statistice este corelaţia negativă identificată între zona degetelor şi al treilea şi al cincilea metatarsian. În consecinţă, în momentul proiectării ansamblului inferior al încălţămintei, proiectantul trebuie să aibă în vedere echilibrarea distribuţiei presiunilor plantare pe zonele piciorului, prin forma şi structura modelului şi prin tipul materialelor folosite.

CUVINTE CHEIE: amprentă plantară, mers, zone de presiune, încălţăminte

LA COMPARAISON DE LA RÉPARTITION DES PRESSIONS PLANTAIRES EN DYNAMIQUE DANS DE DIFFERENTES ZONES DU PIED

RÉSUMÉ. La répartition de la pression existante entre le pied et la surface de contact fournisse des informations précieuses sur la structure et les fonction du pied. Dans une précédente étude, les auteurs ont enregistré les empreintes plantaires d'un nombre de 60 femmes, âgées de 20-30 ans, et ont établi leur typologie du pied. Dans la présente étude on a comparé les valeurs moyennes de la pression sur les dix segments de la surface plantaire, pour chacun des 4 groupes: pied normal, pied haut-arqué, pied plat et l'hallux valgus, identifiés dans une étude précédente. Après la comparaison des pressions pour les 4 groupes de sujets a été observé qu'il n'y a pas de différences significatives entre les sujets, la pression maximale a été enregistrée chaque fois sur le troisième métatarse, suivi par le deuxième métatarsien et le talon. Par une analyse statistique en utilisant le coefficient de corrélation de Pearson on a constaté que certaines zones de la pression sont directement proportionnelles entre elles (par exemple la zone des orteils avec le première, le deuxième et le quatrième métatarsien et avec la zone médiane du pied) et d'autres zones de pression sont indirectement proportionnelles à d'autres (par exemple, la zone externe du talon avec le cinquième orteil). Un résultat important de cette analyse statistique est la corrélation négative identifiée entre la zone des orteils et le troisième et le cinquième métatarsien. Par conséquent, lors de la conception de l'ensemble inférieur de chaussures, le concepteur doit envisager d'équilibrer la répartition des pressions plantaires sur les zones du pied, par la forme et la structure du modèle et le type de matériaux utilisés.

MOTS-CLÉS: empreinte plantaire, marche, zones de pression, chaussures

INTRODUCTION

Walking is a complex motor skill related to the body separation from the bearing plane and its movement. Biomechanical studies have progressed by comparing the presence or the absence of the foot typology parameters between groups with or without

INTRODUCERE

Mersul este acea deprindere motorie complexă legată de desprinderea corpului de planul de reazem şi deplasarea lui în spaţiu, în poziţie verticală. Studiile de biomecanică au progresat, prin compararea prezenţei, absenţei sau mărimii parametrilor tipologici ai piciorului între grupuri cu sau fără

* *Correspondence to: Aura MIHAI, Gheorghe Asachi Technical University of Iasi, 67 Dimitrie Mangeron Blvd., Iasi, Romania, amihai@tex.tuiasi.ro*

pathologies under investigation [1-3].

The plantar pressure represents the forces' distribution on the plantar surface. Plantar pressure measurement gives an indication on the function of the foot and ankle while walking or while performing other physiological activities [4-7]. These data are very important in assessing subjects with abnormal foot or injuries, in the diagnosis and treatment of various diseases associated to musculoskeletal, nervous system and skin [8-10]. Because when walking every step is slightly different from each other due to differences in gait parameters, such as heel contact, speed, strength and effort, there is a change in human locomotion for each individual, even while walking down the same type of ground [11-13].

The evaluation of subjects' pressures could reflect a systemic or localized pathology in the leg and can be indicators (risk factors) or predictors for the development or aggravation of certain pathologies. Atypical plantar pressure values may indicate the need to amend the patient's lifestyle: footwear change, recommendation of orthotics [14].

METHOD

Equipment

In order to obtain the plantar footprints, RSscan pressure plate [15], Figure 1 and the associated system, Footscan 7 Gait, 2nd Generation, 0,5 Gait Scientific System, produced by RSscan International were used.

Measuring plantar pressures has become an important tool in analyzing the gait cycle. Plantar pressure distribution between foot and plantar support provides valuable information on the structure and function of the foot, such as, for example, plantar footprint variation in different phases of gait (Figure 1).

patologii aflate sub investigare [1-3].

Presiunea plantară reprezintă distribuţia forţelor de apăsare pe suprafaţa plantară. Măsurarea presiunii plantare oferă indicaţii referitoare la funcţiile piciorului şi ale gleznei în ortostatism, în timpul mersului şi al altor activităţi fiziologice [4-7]. Aceste date sunt foarte importante în evaluarea subiecţilor cu anomalii ale picioarelor, dar şi în diagnosticarea şi tratarea altor leziuni asociate cu diferite boli ale aparatului locomotor, ale sistemului nervos şi ale tegumentelor [8-10]. Deoarece în timpul mersului fiecare păşeşte uşor diferit de celălalt, din cauza diferenţelor parametrilor de mers, cum ar fi contactul călcâiului, viteza şi unghiul de înclinare, forţa şi efortul depus, variaţia în locomoţia umană există pentru fiecare individ, chiar în condiţii de mers pe jos pe acelaşi tip de sol [11-13].

În momentul evaluării subiecţilor, presiunile sau şabloanele de distribuţie a presiunilor atipice pot reflecta o patologie sistemică sau localizată la membrul inferior şi pot fi indicatori (factori de risc) sau predictori pentru dezvoltarea sau agravarea unei anumite patologii. Valorile atipice ale presiunii plantare pot indica necesitatea modificării regimului de viaţă a pacientului: schimbarea încălţămintei, indicarea unor orteze [14].

METODĂ

Echipament

La obţinerea amprentei plantare a fost folosită placa de presiuni RSscan [15], Figura 1, şi sistemul asociat, Footscan 7 Gait, 2nd Generation, 0,5 Gait Scientific System, producător: RSscan International.

Măsurarea presiunilor plantare a devenit un instrument important în analiza ciclului de mers. Distribuţia presiunii manifestate între talpa piciorului şi planul de sprijin furnizează informaţii valoroase privind structura şi funcţiile piciorului, cum ar fi, de exemplu, variaţia amprentei plantare în diferite faze ale mersului (Figura 1).

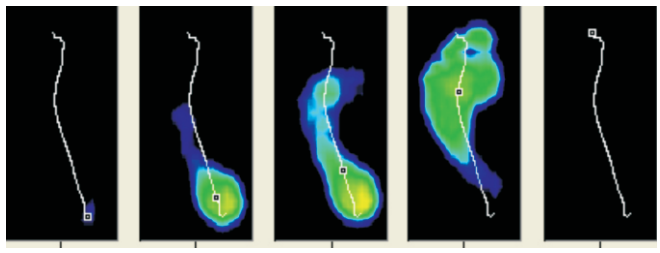


Figure 1. Plantar footprint variation in different phases of gait
Figura 1. Variaţia amprentei plantare în diferite faze ale mersului

Subjects

To establish foot typology, the plantar pressures were taken from 60 young women, aged between 20-30, weighing 45-70 kg. All subjects read and signed an informed consent before testing.

For all investigated subjects the following hypotheses were considered:

- no abnormal walking patterns;
- no structural abnormalities in the foot;
- no systemic diseases that may influence the gait.

RESULTS

The pressures were taken barefoot. For static measurements, the subjects were required to find their balance on the pressure plate having their weight equally distributed on both feet. For dynamic measurements, the subjects had to walk on pressure plate. Three measurements have been taken in order to obtain reliable and comparable sets of data [16]. The plantar footprint was divided in 10 areas, each of them being differently coloured (Figure 2a). The same legend of colours is kept for pressure graphs, in order to easily recognize how the pressure modifies for each foot area [17] (Figure 2b).

Subiecţi

În vederea stabilirii tipologiei piciorului, au fost preluate amprentele plantare la un număr de 60 femei, cu vârsta cuprinsă între 20-30 de ani, iar greutatea între 45-70 kg. Toţi subiecţii au citit şi semnat un acord de consimţământ înainte de testare.

Pentru toţi subiecţii investigaţi s-au considerat următoarele ipoteze de lucru:

- nu au fost observate tipare de mers anormale;
- nu prezintă anomalii structurale la nivelul piciorului;
- nu prezintă afecţiuni sistemice care pot influenţa mersul.

REZULTATE

Presiunile au fost preluate cu piciorul desculţ. Pentru măsurătorile în statică, subiecţii au fost rugaţi să stea cu ambele picioare pe placa de presiuni, într-o poziţie de echilibru. Pentru măsurătorile în dinamică, subiecţii au fost rugaţi să meargă normal pe placă, fiind înregistrată o măsurătoare pentru piciorul drept şi una pentru cel stâng. S-au efectuat câte trei măsurători pentru fiecare subiect pentru a fi obţinute seturi de date fiabile şi comparabile [16]. Talpa piciorului a fost împărţită în 10 zone semnificative (Figura 2a). Aceeaşi legendă a culorilor este păstrată şi la graficele de presiune pentru a putea fi recunoscut mai uşor modul în care presiunile se modifică pe fiecare zonă a piciorului [17] (Figura 2b).

Where:
Unde:

HL – Lateral Heel
HL – Exterior călcâi
HM –Medial Heel
HM – Interior călcâi
MF – Midfoot
MF – Mijlocul piciorului
M1 – Metatarsal 1
M1 – Metatarsian 1
M2 – Metatarsal 2
M2 – Metatarsian 2
M3 – Metatarsal 3
M3 – Metatarsian 3
M4 – Metatarsal 4
M4 – Metatarsian 4
M5 – Metatarsal 5
M5 – Metatarsian 5
T2-5 – Toes 2-5
T2-5 – Degete 2-5
T1 – Toe 1
T1 – Deget 1

Figura 2a. Foot areas and legend of codes and colours
Figura 2a. Zonele amprentei plantare şi legenda codurilor şi a culorilor

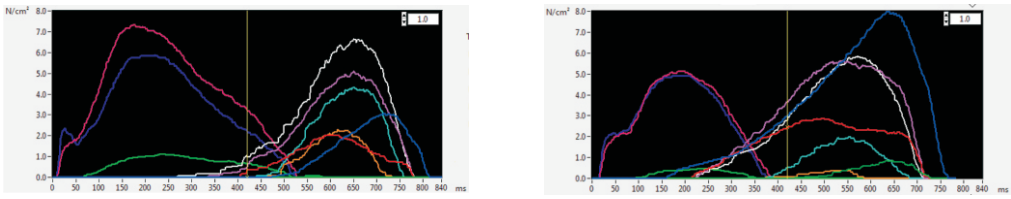


Figure 2b. Example of pressure graphs depending on the foot areas
Figura 2b. Exemple de grafice de presiune pe zonele piciorului

Comparative Analysis of Plantar Pressures

In a previous study [18], the authors have determined the foot type in case of this specific group, based on plantar footprints. Four types were obtained: normal foot, high arched foot, flat foot and Hallux-Valgus foot. In case of this particular study, the plantar pressures for each of the 10 foot areas were compared for the identified groups. The results are presented in the graphs of Figure 3.

Analiza comparativă a presiunilor plantare

Într-un studiu anterior [18], autorii au grupat subiecţii acestui grup în funcţie de parametrii amprentei plantare. Au rezultat patru grupe: picior normal, picior scobit, picior plat şi picior cu Hallux-Valgus. În cadrul prezentului studiu, au fost comparate valorile medii ale presiunilor pe fiecare din cele 10 segmente ale suprafeţei plantare pentru grupurile identificate. Rezultatele sunt prezentate în graficele din Figura 3.

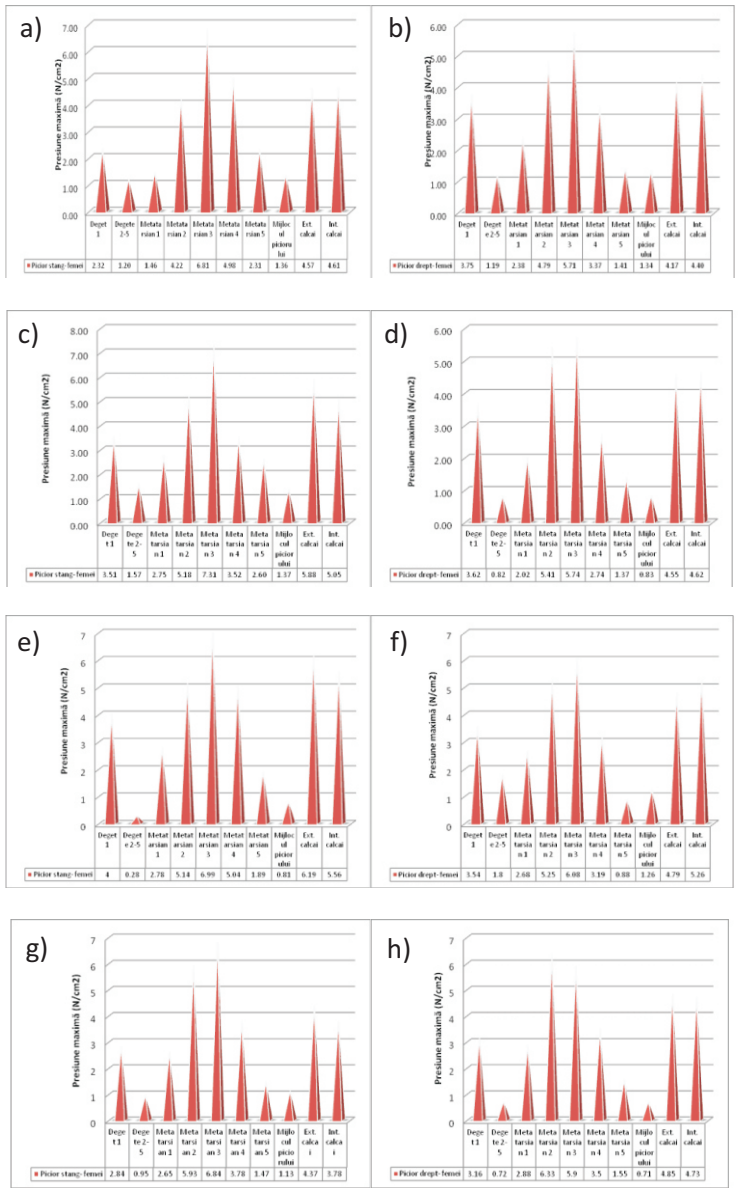


Figure 3. Plantar pressures distribution for left foot: a) normal, c) high arched, e) flat, g) Hallux-Valgus; and for the right foot: b) normal, d) high arched, f) flat, h) Hallux-Valgus

Figura 3. Distribuţia presiunilor plantare pe piciorul stâng: a) normal, c) scobit, e) plat, g) cu Hallux-Valgus, şi pe piciorul drept: b) normal, d) scobit, f) plat, h) cu Hallux-Valgus

By comparing the pressures for the four identified groups, it was demonstrated that there are no significant differences between subjects, the maximum values being registered on the third metatarsal head bone, followed by the second metatarsal head bone and the heel.

Prin compararea presiunilor la cele patru grupuri, s-a demonstrat că nu există diferenţe semnificative între grupurile de subiecţi, presiunea maximă înregistrându-se de fiecare dată pe metatarsianul al treilea, iar următoarele, ca şi valori, pe metatarsianul al doilea şi pe călcâi.

Statistical Analysis

Using pressure values and SPSS software, a descriptive statistics is performed, Table 1.

Analiza statistică

A fost realizată o analiză statistică folosind valorile presiunilor şi aplicaţia software SPSS, Tabelul 1.

Table 1: Descriptive Statistics
Tabelul 1: Analiză statistică descriptivă

	Number of parameters *Număr parametri*	Minimum *Minim*	Maximum *Maxim*	Mean *Medie*	Standard Deviation *Deviaţia standard*
T1	60	0.00	30.86	5.8899	7.82574
T2-5	60	0.00	60.00	6.8821	16.96718
M1	60	0.00	43.50	5.3396	10.02941
M2	60	0.80	92.00	13.5739	25.15176
M3	60	-19.00	21.50	6.4515	4.95691
M4	60	0.60	47.30	7.1664	10.94494
M5	60	0.00	19.00	1.8933	2.64918
MF	60	0.00	3.50	1.2092	0.83466
LH	60	0.40	9.10	4.9333	1.98271
MH	60	1.80	8.65	4.7608	1.61946
Valid N *Număr valid*	60				

The statistically significant connections between parameters were studied using Pearson correlation.

Pearson's correlation coefficient is the covariance of the two variables divided by the product of their standard deviations [19].

Legăturile semnificative din punct de vedere statistic dintre parametri au fost studiate folosind corelaţia Pearson.

Coeficientul de corelaţie Pearson este covarianţa dintre două variabile împărţită la produsul deviaţiilor lor standard [19].

$$P_{X,Y} = \frac{cov(X,Y)}{\sigma X \sigma Y} \text{ [20]} \quad (1)$$

where:

- cov is the covariance;
- σX is the standard deviation of X;
- σY is the standard deviation of Y.

The results are available in Table 2.

unde:

- cov este covarianţa;
- σX este deviaţia standard a lui X;
- σY este deviaţia standard a lui Y.

Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 2.

Table 2: Correlations
Tabelul 2: Corelaţii

		T1	T2-5	M1	M2	M3	M4	M5	MF	LH	MH
T1	Pearson Correlation *Corelaţia Pearson*	1	0.955**	0.893**	0.964**	-0.029	0.869**	-0.190	-0.153	0.417**	0.172
	Sig. (2-tailed)		0.000	0.000	0.000	0.816	0.000	0.145	0.244	0.001	0.188
	N	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
T2-5	Pearson Correlation *Corelaţia Pearson*	0.955**	1	0.889**	0.986**	-0.038	0.890**	-0.217	0.635**	-0.456**	-0.365**
	Sig. (2-tailed)	0.000		0.000	0.000	0.762	0.000	0.095	0.000	0.000	0.004
	N	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
M1	Pearson Correlation *Corelaţia Pearson*	0.893**	0.889**	1	0.932**	0.038	0.967**	-0.160	-0.266*	0.405**	0.225
	Sig. (2-tailed)	0.000	0.000		0.000	0.761	0.000	0.221	0.040	0.001	0.084
	N	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
M2	Pearson Correlation *Corelaţia Pearson*	0.964**	0.986**	0.932**	1	0.028	0.927**	0.166	-0.324*	0.572**	0.450**
	Sig. (2-tailed)	0.000	0.000	0.000		0.819	0.000	0.205	0.011	0.000	0.000
	N	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
M3	Pearson Correlation *Corelaţia Pearson*	-0.029	-0.038	0.038	0.028	1	0.063	0.265*	-0.219	0.661**	0.534**
	Sig. (2-tailed)	0.816	0.762	0.761	0.819		0.614	0.040	0.093	0.000	0.000
	N	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
M4	Pearson Correlation *Corelaţia Pearson*	0.869**	0.890**	0.967**	0.927**	0.063	1	0.415**	-0.127	0.373**	0.371**
	Sig. (2-tailed)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.614		0.001	0.332	0.003	0.003
	N	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
M5	Pearson Correlation *Corelaţia Pearson*	-0.190	-0.217	-0.160	0.166	0.265*	0.415**	1	-0.084	0.163	0.244
	Sig. (2-tailed)	0.145	0.095	0.221	0.205	0.040	0.001		0.523	0.213	0.061
	N	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
MF	Pearson Correlation *Corelaţia Pearson*	-0.153	0.635**	-0.266*	-0.324*	-0.219	-0.127	-0.084	1	-0.319*	-0.085
	Sig. (2-tailed)	0.244	0.000	0.040	0.011	0.093	0.332	0.523		0.013	0.517
	N	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
LH	Pearson Correlation *Corelaţia Pearson*	0.417**	-0.456**	0.405**	0.572**	0.661**	0.373**	0.163	-0.319*	1	0.768**
	Sig. (2-tailed)	0.001	0.000	0.001	0.000	0.000	0.003	0.213	0.013		0.000
	N	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
MH	Pearson Correlation *Corelaţia Pearson*	0.172	-0.365**	0.225	0.450**	0.534**	0.371**	0.244	-0.085	0.768**	1
	Sig. (2-tailed)	0.188	0.004	0.084	0.000	0.000	0.003	0.061	0.517	0.000	
	N	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).
*** Corelaţia este semnificativă la nivelul 0.01 (2-tailed).*
* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).
** Corelaţia este semnificativă la nivelul 0.05 (2-tailed).*

If by analyzing the Pearson correlation coefficient, a value closer to +1 is obtained, it means it is a stronger positive correlation, a value closer to -1, a stronger negative correlation, and 0 means no correlation. Considering the significant positive and negative correlation between parameters, one can highlight that some pressure areas are directly proportional to others (like for example T1 and T2-5 with M1, M2, M4, MF) and other pressure areas are indirectly proportional to others (like for example LH and T2-5). An important result is the negative correlation between toe area and the third and fifth metatarsals bone head.

Dacă prin analiza coeficientului de corelaţie Pearson se obţine o valoare mai apropiată de +1 atunci este o corelaţie puternic pozitivă, iar o valoare mai apropiată de -1 reprezintă o corelaţie puternic negativă, 0 înseamnă că nu există nicio corelaţie. Având în vedere corelaţiile semnificativ pozitive şi negative dintre parametri, se poate demonstra că unele zone de presiune sunt direct proporţionale cu altele (de exemplu T1 şi T2-5 cu M1, M2, M4, MF), iar unele zone de presiune sunt indirect proporţionale cu altele (de exemplu LH cu T2-5). Un rezultat important este corelaţia negativă dintre zona degetelor şi al treilea şi al cincilea metatarsian.

CONCLUSIONS

The present study approaches the main differences of plantar pressures in the case of young adult women, depending on the foot type and foot area analyzed. The findings of the Pearson correlation analysis demonstrate significant positive and negative correlation between foot plantar pressure parameters. Therefore, when creating the footwear bottom components, the designer should use different materials, structures and design in order to redistribute the plantar pressures according to areas of the foot.

CONCLUZII

Studiul de faţă abordează diferenţele principale ale presiunilor plantare în cazul femeilor tinere adulte, în funcţie de tipul şi de zona piciorului analizat. În cadrul acestui studiu s-a arătat că există diferenţe de presiune la persoanele tinere de sex feminin, în funcţie de zona piciorului şi de tipul piciorului analizat. Rezultatele analizei Pearson demonstrează corelaţia pozitivă şi negativă semnificativă între parametrii de presiune plantară ai piciorului. În consecinţă, în momentul proiectării ansamblului inferior al încălţămintei, proiectantul trebuie să aibă în vedere echilibrarea distribuţiei presiunilor plantare pe zonele piciorului, prin forma şi structura modelului şi prin tipul materialelor folosite.

REFERENCES

1. Zheng, S., Huang, K., Tan, T., Evaluation framework on translation-invariant representation for cumulative foot pressure image, The 18th IEEE International Conference on Image Processing (ICIP), **2011**, 201–204.
2. Zheng, S., Huang, K., Tan, T., Tao, D., A cascade fusion scheme for gait and cumulative foot pressure image recognition, *Pattern Recogn*, **2012**, 45, 3603–3610, available at www.elsevier.com/locate/pr.
3. Felzenszwalb, P.F., Girshick, R.B., McAllester, D., Ramanan, D., Object detection with discriminatively trained part-based models, *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell*, **2010**, 32, 1627–1645.
4. Deselnicu, D.C., Vasilescu, A.M., Mihai, A., Purcarea, A.A., Militaru, G., New products development through customized design based on customers' needs. Part 2: Foot Pathology Manufacturing Parameters, The 9th International Conference Interdisciplinarity in Engineering, INTER-ENG 2015, *Procedia Technology*, **2016**, 22, 1059 – 1065, available at www.sciencedirect.com.
5. Sarghie, B., Mihai, A., Herghiligiu, I.V., E-learning application for 3D modelling of custom shoe lasts using templates,

The 12th International Scientific Conference eLearning and Software for Education, Bucharest, April 21-22, **2016**, 10.12753/2066-026X-16-260, p.553.
6. Herghiligiu, I.V., Mihai, A., Sarghie, B., Souto Bizarro, R., Arias, C., Framework of the e-learning training program on corporate social responsibility, The 12th International Scientific Conference eLearning and Software for Education, Bucharest, April 21-22, **2016**, 10.12753/2066-026X-16-255, p. 526.
7. Ionesi, D., Ciobanu, L., Sarghie, B., E-Learning Application for a better understanding of shoes 3D modeling, 10th International Scientific Conference ELSE, ISSN 2360-2198, **2014**, 10.12753/2066 026X 14 285, p.196.
8. Tao, D., Li, X., Wu, X., Maybank, S.J., General tensor discriminant analysis and gabor features for gait recognition, *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell*, **2007**, 29, 10, 1700–1715.
9. Geng, X., Smith-Miles, K., Wang, L., Li, M., Wu, Q., Context-aware fusion: a case study on fusion of gait and face for human identification in video, *Pattern Recogn*, **2010**, 43, 3660–3673.
10. He, M., Horng, S., Fan, P., Performance evaluation of score level fusion in multimodal biometric systems, *Pattern Recogn*, **2010**, 43, 1789–1800.
11. Chang, W.R., Matz, S., Chang, C.-C., A comparison of required coefficient of friction for both feet in level walking, *Safety Sci*, **2012**, 50, 240–243, available at www.elsevier.com/locate/ssci.
12. Gravano, S., Ivanenko, Y.P., Maccioni, G., Macellari, V., Poppele, R.E., Lacquaniti, F., A novel approach to mechanical foot stimulation during human locomotion under body weight support, *Hum Mov Sci*, **2011**, 30, 352–367, available at www.elsevier.com/locate/humov.
13. Wrbaskic, N., Dowling, J.J., An investigation into the deformable characteristics of the human foot using fluoroscopic imaging, *Clin Biomech*, **2007**, 22, 230–238, available at www.elsevier.com/locate/clinbiomech.
14. Păştină, M., Mihai, A., Bilalis, N., Finite element analysis for insole-sole prototypes, Proceedings of "The 4th International Conference on Advanced Materials and Systems", ICAMS 2012, Bucharest, **2012**, ISSN 2068-0783, 359-364.
15. http://www.rsscan.co.uk/
16. Costea, M., Vasilescu, A.M., Hortal, G., Mihai, A., Plantar footprints analysis - case study (part 2), *Revista de Pielarie Incaltaminte* (*Leather and Footwear Journal*), **2014**, 14, 4, Certex Publishing House, ISSN 15834433, 243-250.
17. Mihai, A., Hortal, G., Costea, M., Plantar footprints analysis – case study (part 1), *Revista de Pielarie Incaltaminte* (*Leather and Footwear Journal*), **2013**, 13, 3, Certex Publishing House, ISSN 15834433, 201-210.
18. Mihai, A., Păştină (Costea), M., Classification of foot types, based on plantar footprint, Proceedings of "The 4th International Conference on Advanced Materials and Systems", ICAMS 2012, Bucharest, **2012**, ISSN 2068-0783, 347-352.
19. https://en.wikipedia.org/wiki/Pearson_product-moment_correlation_coefficient
20. http://www.real-statistics.com/correlation/basic-concepts-correlation/

Article received/Data primirii articolului: 24.05.2016
Accepted/Acceptat la data: 13.06.2016

PHYTO-BASED PRESERVATION OF RAW SKINS FOR SALINITY REDUCTION IN TANNERY WASTEWATER

CONSERVAREA PIEILOR CRUDE CU AJUTORUL PLANTELOR PENTRU REDUCEREA SALINITĂŢII APELOR REZIDUALE DIN TĂBĂCĂRII

Marudhamuthu VINODHKUMAR[1*], Velappan BRINDHA[2], James KANAGARAJ[2], Alagumuthu TAMILSELVI[1], Sayeed SADULLA[3]

[1]Centre for Human and Organizational Resources Development (CHORD), CSIR-CLRI, Chennai, India, vinodh14579@gmail.com

[2]Leather Process Technology Division, CSIR-CLRI

[3]Indian Leather Products Association, Chennai, India

PHYTO-BASED PRESERVATION OF RAW SKINS FOR SALINITY REDUCTION IN TANNERY WASTEWATER

ABSTRACT. Leather industry is one of the top polluting industries albeit producing precious commodities for human use. Curing of raw skins and hides with salt is one chief deterrent increasing the Total Dissolved Solids (TDS) of water bodies and fertile lands. In this present investigation, an attempt has been made to reduce the salt used for preservation by substituting with plant extracts. Plants like *Cassia fistula* Linn. (Cassia), family *Caesalpiniaceae* and *Psidium guajava* L, family *Myrtaceae* display brilliant antimicrobial qualities. Experimental skin (goat) samples were treated with5% Salt + 5% Cassia paste, 10% Salt + 10% Cassia paste, 15% Salt + 15% Cassia paste, 5% salt + 5% Guava paste, 10% salt + 10% Guava paste, 15% salt + 15% Guava paste and 40% salt according to the skin weights respectively. The experimental skins were preserved for 21 days and were observed for hair slip, smell and putrefaction. Estimation of protein, hydroxyproline and moisture content and microbial load were tested on the 1st, 2nd, 3rd, 7th, 14th and 21st day. On the 21st day the skins were processed into leather and their physical properties were examined and found comparable to the conventionally cured skins. Hence, this cleaner curing method helps in reducing the TDS in the effluent, thus controlling pollution caused by tanneries through salt.

KEY WORDS: phyto-based preservation, *Cassia fistula*, *Psidium guajava*, wastewater, salinity reduction.

CONSERVAREA PIEILOR CRUDE CU AJUTORUL PLANTELOR PENTRU REDUCEREA SALINITĂŢII APELOR REZIDUALE DIN TĂBĂCĂRII

REZUMAT. Industria de pielărie este una dintre industriile cele mai poluante, deşi este producătoare de materii prime preţioase pentru uz uman. Conservarea pieilor crude cu sare este poluantă, conducând la creşterea substanţelor solubile totale (TDS) din apă şi terenuri fertile. În cadrul prezentei investigaţii, s-a încercat reducerea sării utilizate pentru conservare prin substituirea acesteia cu extracte din plante. Plante precum *Cassia fistula* Linn. (Cassia), familia *Caesalpiniaceae* şi *Psidium guajava* L, familia *Myrtaceae* prezintă calităţi antimicrobiene extraordinare. Probele experimentale de piele (capră) au fost tratate cu 5% sare + 5% pastă de cassia, 10% sare + 10% pastă de cassia, 15% sare + 15% pastă de cassia, 5% sare + 5% pastă de guava, 10% sare + 10% pasta de guava, 15% sare + 15% pastă de guava, respectiv cu 40% sare, în funcţie de greutatea pielii. Pieile experimentale s-au conservat timp de 21 de zile şi au fost evaluate cu privire la căderea părului, miros şi putrefacţie. S-au determinat conţinutul de proteine, de hidroxiprolină şi de umiditate şi încărcătura microbiană în zilele 1, 2, 3, 7, 14 şi 21. În ziua 21, pieile au fost prelucrate până la stadiul de piele finită şi s-au testat proprietăţile fizice, considerându-se comparabile cu pieile conservate în mod convenţional. Prin urmare, această metodă ecologică de conservare ajută la reducerea TDS din efluenţi, controlând astfel poluarea cauzată de tăbăcării prin utilizarea sării.

CUVINTE CHEIE: conservare pe bază de plante, *Cassia fistula*, *Psidium guajava*, ape reziduale, reducerea salinităţii.

LA CONSERVATION DES PEAUX À BASE DE PLANTES POUR RÉDUIRE LA SALINITÉ DES EAUX USÉES DES TANNERIES

RÉSUMÉ. L'industrie du cuir est l'une des industries plus polluantes même si elle produit des matières premières précieuses pour l'usage humain. La conservation des peaux brutes au sel est un processus polluant qui augmente le total des solides dissous (TDS) dans l'eau et les terres fertiles. Dans la présente investigation, on a fait une tentative de réduire le sel utilisé pour la conservation en le substituant aux extraits de plantes. Des plantes comme *Cassia fistula* Linn. (Cassia), famille *Caesalpiniaceae* et *Psidium guajava* L, famille *Myrtaceae* ont des qualités antimicrobiennes extraordinaires. Les échantillons de peau expérimentale (chèvre) ont été traités avec 5% sel + 5% pâte de Cassia, 10% sel + 10% pâte de Cassia, 15% sel + 15% pâte de Cassia, 5% sel + 5% pâte de goyave, 10% sel + 10% pâte de goyave, 15% sel + 15% pâte de goyave et avec 40% sel en fonction du poids de la peau brute, respectivement. Les peaux expérimentales ont été conservées pendant 21 jours et ont été analysées pour déterminer le glissement des cheveux, l'odeur et la putréfaction. On a déterminé la teneur en protéine, hydroxyproline et humidité et la charge microbienne le 1er, 2e, 3e, 7e, 14e et 21e jour. Le 21e jour les peaux ont été transformées en cuir et leurs propriétés physiques ont été examinés et jugés comparables aux peaux classiquement conservées. Par conséquent, ce procédé écologique de conservation contribue à réduire le TDS dans l'effluent, contrôlant ainsi la pollution causée par les tanneries en utilisant le sel.

MOTS CLÉS: conservation à base de plantes, *Cassia fistula*, *Psidium guajava*, eaux usées, réduction de la salinité.

[*] *Correspondence to: Vinodhkumar MARUDHAMUTHU, Centre for Human and Organizational Resources Development, CSIR-CLRI, Sardar Patel Road, Adyar, Chennai, India 600020; vinodh14579@gmail.com; +91-9840249513*

INTRODUCTION

Converting raw hides and skins into leather is ancient. Since the last century, this traditional craft-oriented act has transformed into a huge industrialized and profit-making business. In transformation of hides and skins into leather, the hides and skins undergo a temporary and reversible "curing" or "preservation" method to increase the shelf life of these raw materials. Thus, curing, though not one of the essential steps/stages in leather making, has become the foremost and important link in the supply chain. Normally salt is used for preservation purposes though there are many preservation methods, both practiced as well as of academic curiosity. Salt has been identified as a pollutant. Chloride concentration in conventional tannery wastewater is about 9 g l^{-1} which represents a considerable problem for biological plants [1]. Along with the pros, this concentrate act brought in its own cons. Given the current scenario, this industry is ailing through solid and liquid waste management issues. Especially the methods the industry adopts for short term preservation of skins and hides seem easy, but bring in serious disposal problems.

There are different methods adopted in the preservation of skins for a long duration by physical methods (sun drying, controlled drying, cooling and chilling, cooled air treatment, addition of ice and use of dry ice [2]) and in chemical methods, sodium chloride is used at the level of 40–50% and is the most popular curing method [2]. The short term preservation this industry is adopting leads to serious Total Dissolved Solids (TDS) concerns [3]. This chemical method accounts to about 40% of chlorides and 55% of TDS, in the entire leather processing operations [4]. Govindasamy [5] in his study has reported that the effluents from chrome tanning industry should meet with the specific tolerance limits for chloride with 1000 mg l^{-1}, Biological Oxygen Demand (BOD) with 30 mg l^{-1}. Vlyssides [6] mentions the acceptable range for chlorides (mg l^{-1}) as 1500–28000 composition of tannery waste liquors. The common salt based preservation chiefly accounts for the chlorides emanating in the liquid effluents of leather manufacture. The impact of salinity emanating from

INTRODUCERE

Transformarea pieilor crude în piei finite este o îndeletnicire foarte veche. Începând cu ultimul secol, acest proces tradiţional artizanal s-a transformat într-o imensă afacere industrializată şi aducătoare de profit. La transformarea pieilor crude în piele finită, pieile sunt supuse unei metode temporare şi reversibile de „tratare" sau „conservare" pentru a prelungi durata de depozitare a acestor materii prime. Astfel, deşi nu se numără printre etapele esenţiale în procesul de fabricare a pielii, a devenit cel mai important element din cadrul lanţului de aprovizionare. În mod normal, se utilizează sarea pentru conservare, deşi există mai multe metode de conservare, atât practicate, cât şi teoretice. Sarea a fost identificată ca substanţă poluantă. Concentraţia de cloruri în apele uzate din tăbăcăriile convenţionale este de aproximativ 9 g l^{-1}, ceea ce reprezintă o problemă considerabilă pentru plante [1]. Pe lângă avantaje, această operaţiune prezintă şi dezavantaje. Având în vedere scenariul actual, această industrie se confruntă cu probleme de gestionare a deşeurilor solide şi lichide. În special metodele pe care le adoptă industria pentru conservarea pe termen scurt a pieilor par simple, dar aduc probleme serioase privind eliminarea deşeurilor.

S-au adoptat diferite metode de conservare a pieilor pentru o durată lungă, prin proceduri fizice (uscarea la soare, uscarea controlată, răcirea, tratarea cu aer rece, adăugarea de gheaţă şi utilizarea zăpezii carbonice [2]) şi proceduri chimice, dintre care utilizarea clorurii de sodiu la nivel de 40-50% este cea mai des utilizată metodă de conservare [2]. Metodele de conservare pe termen scurt pe care le adoptă această industrie conduc la probleme privind substanţele solubile totale (TDS) [3]. Acestei metode chimice îi revin aproximativ 40% din cloruri şi 55% din TDS, din totalul operaţiunilor de prelucrare a pieilor [4]. Govindasamy [5] a raportat în studiul său că efluenţii din procesul tăbăcire cu crom trebuie să se încadreze în limitele de toleranţă specifice pentru clorură, de până la 1000 mg l^{-1}, iar pentru consumul biochimic de oxigen (CBO), de până la 30 mg l^{-1}. Vlyssides [6] menţionează intervalul acceptabil pentru cloruri (mg l^{-1}) între 1500-28000, din compoziţia apelor reziduale din tăbăcării. Conservarea uzuală pe bază de sare este principala responsabilă pentru clorurile conţinute în efluenţii de la fabricarea pielii. Impactul salinităţii din tăbăcărie

tannery environment to the ecosystem has been reviewed by Sayeed Sadulla [7] in his article.

Haydar *et al.* [8] have tried reducing the impurities from the effluent and the percentage removal efficiency for turbidity, Total Suspended Solids (TSS), Chemical Oxygen Demand (COD) and chromium was found to be 98.7-99.8, 94.3-97.1, 53.3-60.9, and 98.9-99.7%, respectively. These impurities can be abated only by eliminating the causative from the root itself and adopting a greener means like moving towards eco-friendly method of preservation where the TDS, BOD, COD can be controlled without any additional treatment methods. Research is underway to substitute or minimize the salt used in curing process globally. Phyto-based preservation is one of such attempts adopting an eco-friendly approach. Plants are rich in a wide variety of secondary metabolites such as tannins, terpenoids, alkaloids, flavonoids, glycosides etc., that have antimicrobial properties [9, 10] which are indispensable properties for any preservant, temporary or permanent. The plants so far discovered to have curing property are Neem [11], *Acalypha indica* [12], *Weddilia chininsis*, *Cassia alata*, *Clerodendron phlomides*, *Solanum trilobatum*, *Calotropis procera* [13], *Semecarpus anacardium* nut extract [14].

In the present study, *Cassia fistula* and *Psidium guajava* are complemented with the salt curing. *Cassia fistula* or Indian Laburnum belongs to the family *Caesalpiniaceae* [15]. Tzakou and his colleagues [16] identified forty-four chemical compounds and the other phytochemicals reported to be present in the leaves of *C. fistula* and they are Anthraquinones like Rhein glucoside, Rhein, Fistulic acid, Sennoside A & B, Chrysophanol and Physcion, 9-epiafzelechin, 3-O-B-D-Glucopyranoside, 7-bioflavonoids and two Triflavonoids together with Epiafzelechin and Procyanidin B-2 [17-19]. The young and old leaves of the plant contain the highest amount of Phenolic, Flavonoid and Proanthocyanidin contents [20]. Leaves and flowers contain Anthraquinone, Tannin, Oxyanthraquinone, Rhein and Volatile oils [21]. *Cassia fistula* is found to be an effective antibacterial agent against *Escherichia coli*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Klebsiella aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* and *S. aureus* and antifungal against *Microsporum*

asupra ecosistemului a fost analizat de Sayeed Sadulla [7], în articolul său.

Haydar şi colab. [8] au încercat să reducă impurităţile din efluenţi, iar eficienţa de îndepărtare procentuală pentru turbiditate, substanţe solide în suspensie totale (TSS), consumul chimic de oxigen (CCO) şi crom s-a dovedit a fi 98,7-99,8, 94,3-97,1, 53,3-60,9 şi respectiv 98,9-99,7%. Aceste impurităţi pot fi reduse numai prin eliminarea cauzelor şi prin adoptarea unor mijloace mai ecologice, cum ar fi trecerea la metoda ecologică de conservare prin intermediul căreia TDS, CBO, CCO pot fi controlate fără metode de tratare suplimentare. Se desfăşoară cercetări la nivel global pentru a înlocui sau minimiza sarea utilizată în procesul de conservare. Conservarea pe bază de plante este una dintre aceste încercări de a adopta o abordare ecologică. Plantele au un conţinut bogat de metaboliţi secundari de largă varietate, cum ar fi taninuri, terpenoide, alcaloizi, flavonoide, glicozide, etc., care au proprietăţi antimicrobiene [9, 10], proprietăţi indispensabile pentru orice tip de conservant, temporar sau permanent. Plantele cu proprietăţi de conservare descoperite până în prezent sunt arborele de Neem [11], *Acalypha indica* [12], *Weddilia chininsis*, *Cassia alata*, *Clerodendron phlomides*, *Solanum trilobatum*, *Calotropis procera* [13], extract de nuci *Semecarpus anacardium* [14].

În studiul de faţă, s-au utilizat *Cassia fistula* şi *Psidium guajava* în combinaţie cu metoda conservării cu sare. *Cassia fistula* sau salcâmul indian aparţine familiei *Caesalpiniaceae* [15]. Tzakou şi colab. [16] au identificat patruzeci şi patru de compuşi chimici şi alte fitochimicale prezente în frunzele de *C. fistula* şi sunt antrachinone precum glucozida de reină, reina, acidul fistulic, senozida A & B, crisofanolul şi fisciona, 9-epiafzelechina, 3-OBD-glucopiranozida, 7-bioflavonoidele şi două triflavonoide împreună cu epiafzelechina şi procianidina B-2 [17-19]. Frunzele tinere şi vechi ale plantei conţin cea mai mare cantitate de fenoli, flavonoide şi proantocianidină [20]. Frunzele şi florile conţin antrachinonă, tanin, oxiantrachinonă, reină şi uleiuri volatile [21]. *Cassia fistula* se dovedeşte a fi un agent antibacterian eficient împotriva *Escherichia coli*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Klebsiella aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* şi *S. aureus* şi antifungic, cu acţiune împotriva *Microsporum*

gypseum, *Trichophyton rubrum* and *Penicillium marneffei* [22-24]. Many pharmacological studies have demonstrated the antioxidant, hepatoprotection, anti-allergy, antimicrobial, antigenotoxic, cytotoxic, cardioactive, anticough, antidiabetic and anti-rheumatic effect of *P. guajava* [25, 26].

The main objective of this investigation is to study the curing properties of "Phyto-extract" of *Cassia fistula* and *Psidium guajava* leaves after the application on freshly flayed goat skins. The reduced use of common salt and the resultant mileage in disposal of the liquor effluent are relevant gains with respect to this eco-friendly intervention. The experimental skins were studied for 21 days. Afterwards, the leathers made out of the preserved skins were tested for their physical properties and colour characteristics.

MATERIALS AND METHODS

Collection of Plant Materials

The leaves of *Cassia fistula* and *Psidium guajava* were collected from Adyar, Chennai, India. Then the washed leaves were shade-dried and ground to powder (2 mm mesh). The powder was stored in a brown bottle for future use.

Preparation of Solvent Extract

Ethanol, Hexane and distilled water extracts were prepared from 5 g of ground plant leaves (*Cassia fistula* and *Psidium guajava*) by suspending them in 25 ml of solvents (Ethanol, Hexane and distilled water respectively) in a shaker for 72 hrs. Then, the respective extracts were filtrated with Whatmann filter paper No 1 and evaporated using rotary evaporator [27]. The obtained extracts were stored at 4°C for further analysis.

Antimicrobial Assay of Phyto-extract on Isolated Microbes

Screening of antibacterial potential of the prepared extracts against *Bacillus* sp., *Klebsiella* sp. and *Proteus* sp. were performed by agar well diffusion method according to NCCLS Guidelines [28] in MHA (Mueller Hinton Agar) plates.

gypseum, *Trichophyton rubrum* şi *Penicillium marneffei* [22-24]. Multe studii farmacologice au demonstrat efectele antioxidante, hepatoprotectoare, anti-alergice, antimicrobiene, antigenotoxice, citotoxice, cardioactive, anti-tuse, antidiabetice şi anti-reumatice ale *P. guajava* [25, 26].

Obiectivul principal al acestei investigaţii este de a studia proprietăţile curative ale extractelor de frunze de *Cassia fistula* şi *Psidium guajava* după aplicarea acestora pe piei de capră proaspăt jupuite. Utilizarea redusă a sării comune şi conţinutul care rezultă la eliminarea efluentului lichid sunt avantajele relevante ale acestei intervenţii ecologice. Pieile experimentale au fost studiate timp de 21 de zile. Ulterior, pieile finite prelucrate din pieile conservate au fost testate pentru a determina proprietăţile fizice şi caracteristicile de culoare ale acestora.

MATERIALE ŞI METODE

Colectarea materialului vegetal

Frunzele de *Cassia fistula* şi *Psidium guajava* au fost colectate din Adyar, Chennai, India. Frunzele spălate au fost uscate la umbră şi măcinate până la obţinerea unei pulberi (sită de 2 mm). Pulberea a fost depozitată într-o sticlă de culoare brună pentru utilizare ulterioară.

Prepararea extractului cu solvent

S-au preparat extracte apoase în etanol, hexan şi apă distilată din 5 g de frunze de plante măcinate (*Cassia fistula* şi *Psidium guajava*) prin suspensia acestora în 25 ml de solvent (etanol, hexan, respectiv, apă distilată) într-un agitator, timp de 72 de ore. Apoi, extractele respective au fost filtrate prin hârtie de filtru Whatmann nr. 1 şi s-a evaporat apa cu ajutorul evaporatorului rotativ [27]. Extractele obţinute au fost depozitate la 4°C pentru analize ulterioare.

Testul antimicrobian al extractelor vegetale asupra microbilor izolaţi

S-a determinat potenţialul antibacterian al extractelor preparate contra *Bacillus* sp., *Klebsiella* sp. şi *Proteus* sp. prin metoda difuzimetrică cu godeuri în agar în conformitate cu liniile directoare NCCLS [29] în plăci MHA (agar Mueller Hinton).

Test Microorganisms

The collagen degrading bacteria (*Bacillus* sps., *Klesbeilla* sps. and *Proteus* sps.) isolated from goat skins were selected for testing antimicrobial activity of *Cassia fistula* and *Psidium guajava* extracts. Fresh cultures were maintained as nutrient agar slants in screw-capped bottles and stored at 4°C. All cultures were checked for viability and purity by regular plating and biochemical tests. Test cultures were prepared by transferring a loop full of bacteria from the stock culture to nutrient broth and incubated at 37°C for 24 hrs.

Antibacterial Activity (Well Diffusion Method)

The anti-bacterial activity of the Ethanol, Hexane and distilled water extracts of *Cassia fistula* and *Psidium guajava* were tested against *Bacillus* sps., *Klebsiella* sps. and *Proteus* sps. by Agar well diffusion method. The agar-well diffusion method has been used to determine the effect of extracts on bacterial species *in vitro*. At first, the suspensions (with standard turbidity compared to that of the McFarland standard of 0.5) of each of the test bacteria; i.e., *Bacillus* sps., *Klebsiella* sps. and *Proteus* sps. were spread evenly over sterile MHA plates. Wells were then made on the seeded MHA plates by means of sterile cork-borer. Each of the samples was then introduced separately in a concentration of 100 µl with a residual herbal medicine concentration. Presence of clear zone around the sample (if any) was analyzed for the existence of the antibacterial activity of the samples after incubation of the plates for 24 hrs. The diameter of the inhibition zone was measured in mm and recorded.

Application in Leather Industry

Skin Curing

Freshly flayed 5 goat skins were obtained from a local slaughter house and each skin was cut into four quarters. In each of the quarter section of the skin, combination of *Cassia fistula* leaves paste + salt and *Psidium guajava* leaves paste + salt were applied. The Table 1 explains the experimental design for the study. All the curing materials were applied on the flesh side of the skins based on the raw green weight of the skins.

Microorganisme pentru testare

Bacteriile care degradează colagenul (*Bacillus* sp., *Klesbeilla* sp. şi *Proteus* sp.) izolate din pieile de capră au fost selectate pentru testarea activităţii antimicrobiene a extractelor de *Cassia fistula* şi *Psidium guajava*. Culturile proaspete s-au menţinut în medii nutritive în flacoane cu capac cu filet şi depozitate la 4°C. Viabilitatea şi puritatea tuturor culturilor au fost verificate prin placare regulată şi teste biochimice. Culturile de testat au fost preparate prin transferarea unei anse bacteriologice din cultura stoc în mediul nutritiv şi au fost incubate la 37°C timp de 24 ore.

Activitatea antibacteriană (metoda difuzimetrică cu godeuri)

Activitatea antibacteriană a extractelor în etanol, hexan şi apă distilată ale *Cassia fistula* şi *Psidium guajava* a fost testată împotriva *Bacillus* sp., *Klebsiella* sp. şi *Proteus* sp. prin metoda difuzimetrică cu godeuri în agar. Metoda difuzimetrică cu godeuri în agar a fost utilizată pentru a determina efectul extractelor asupra speciilor bacteriene *in vitro*. Mai întâi, suspensiile (cu turbiditate standard, comparativ cu cea a standardului McFarland de 0,5) fiecărei bacterii testate, şi anume, *Bacillus* sp., *Klebsiella* sp. şi *Proteus* sp., au fost repartizate în mod egal în plăci sterile MHA. S-au făcut apoi godeuri pe plăcile însămânţate cu ajutorul unei sonde sterile. Fiecare dintre probe a fost apoi introdusă separat într-o concentraţie de 100 µl cu o concentraţie reziduală de medicament pe bază de plante. Prezenţa zonei clare în jurul probei (dacă a existat) a fost analizată pentru a determina existenţa activităţii antibacteriene a probelor după incubarea plăcilor timp de 24 de ore. Diametrul zonei de inhibiţie a fost măsurat în mm şi înregistrat.

Aplicarea în industria de pielărie

Conservarea pieilor

S-au obţinut cinci piei de capră proaspăt jupuite dintr-un abator local şi fiecare piele a fost tăiată în patru sferturi. Pe fiecare dintre cele patru sferturi s-a aplicat o combinaţie de pastă de frunze de *Cassia fistula* + sare şi pastă de frunze de *Psidium guajava* + sare. Tabelul 1 ilustrează designul experimental pentru studiu. Toate materialele de conservare au fost aplicate pe partea de carne a pieilor raportate la greutatea pieilor crude.

These experimental skins were allowed to be preserved at an ambient temperature of 31°C for 21 days.

Sample Collection

During the preservation period the experimental skins were physically examined for hair slip, smell and putrefaction. And small pieces of skins were collected on the 1st, 3rd, 7th, 14th and 21st day and tested for biochemical parameters (moisture content, extractable hydroxyproline content and protein content) and microbial load.

On the 21st day, both the control and preserved experimental skins were processed into leather. The soak liquors were collected and studied for the effluent characteristics (COD, TDS and TS). The processed leathers were tested for their physical properties, colour fastness. The results were compared with the control at the end.

Biochemical Parameters

Determination of Moisture Content

The experimental skin sample was weighed (25 g) with silica crucible and noted as initial weight value (A). This was then placed in hot air oven at 98°C for 3 hrs, cooled in a desiccator and weighed. This will give the final weight (B). The percentage of moisture content is measured by:

Aceste piei experimentale au fost păstrate la o temperatură ambiantă de 31°C timp de 21 de zile.

Colectarea probelor

În timpul perioadei de conservare, pieile experimentale au fost examinate fizic pentru a determina gradul de înlăturare al părului, mirosul şi putrefacţia. S-au colectat bucăţi mici de piei după 1, 3, 7, 14 şi 21 de zile şi s-au testat pentru determinarea parametrilor biochimici (conţinutul de umiditate, conţinutul de hidroxiprolină extractibilă şi conţinutul de proteine) şi a încărcăturii microbiene.

În ziua 21, atât pieile martor, cât şi cele experimentale conservate au fost prelucrate până la stadiul de piele finită. Lichidul de la înmuiere a fost colectat şi studiat pentru a determina caracteristicile efluentului (CCO, TDS şi TS). Pieile prelucrate au fost testate pentru a determina proprietăţile fizice şi rezistenţa culorii acestora. Rezultatele au fost comparate cu cele ale probelor martor la final.

Parametrii biomecanici

Determinarea conţinutului de umiditate

Proba de piele experimentală a fost cântărită (25 g) într-un creuzet de silice şi s-a notat valoarea iniţială a greutăţii (A). Proba a fost apoi pusă în cuptorul cu aer cald la 98°C timp de 3 ore, s-a răcit într-un desicator şi s-a cântărit. S-a obţinut astfel greutatea finală (B). Procentul de umiditate s-a măsurat prin:

$$\text{\% of moisture content} = (A-B) / A \times 100 \quad (1)$$

% din conţinutul de umiditate = (A-B) / A x 100

Hydroxyproline Estimation

The preserved skin sample (5 g) was suspended in ten times distilled water at 40-50 rpm for 30 minutes. The suspended solution was analysed for hydroxyproline by Woessner method [29]. A small sample of the suspended solution was hydrolysed with 6 N HCl overnight at 130°C. To this, 1 ml of Chloramine T was shaken for a few minutes and allowed to stand for 20 minutes. To this, 1 ml of perchloric acid is added and mixed well and allowed to stand for 5 minutes, followed by 1 ml of PDAB (p-dimethylaminobenzaldehyde) and mixed well. Then the tubes are placed at 60°C in a water

Estimarea hidroxiprolinei

Proba de piele conservată (5 g) a fost suspendată în apă distilată de zece ori la 40-50 rpm timp de 30 minute. Soluţia în suspensie a fost analizată pentru a determina conţinutul de hidroxiprolină prin metoda Woessner [30]. O probă mică din soluţia de suspensie s-a hidrolizat cu acid clorhidric 6 N peste noapte la 130°C. S-a adăugat 1 ml de cloramină T şi s-a agitat timp de câteva minute, apoi s-a lăsat să stea timp de 20 de minute. S-a adăugat 1 ml de acid percloric şi s-a amestecat bine, apoi s-a lăsat să stea timp de 5 minute, urmat de 1 ml de PDAB (p-dimetilaminobenzaldehidă)

bath for 20 minutes and then cooled with tap water for 5 minutes. The absorbency of the solution is determined spectrophotometrically at 557 nm. The hydroxyproline values may be determined directly from the standard curve. The results are expressed in µg ml^{-1}.

Protein Estimation

The supernatant solution (1 ml) was obtained after suspending the experimental skin sample in ten times the distilled water. To the supernatant sample, alkaline copper sulphate reagent was added and mixed well and incubated at room temperature for 10 minutes. To this 0.2 ml of the Folin-Ciocalteu solution was added and incubated for 30 minutes and read spectrophotometrically at 600 nm [30]. The results are expressed in mg ml^{-1}.

Microbial Study

Determination of Bacterial Load

The experimental cured skin (10 g) was suspended in 90 ml of sterile distilled water and kept in an orbital shaker at 40-50 rpm for 30 minutes. The suspended solution (1 ml) was serially diluted in 9 ml normal saline till 10^{-3} dilution. From the diluted tube 0.1 ml was poured in sterile nutrient agar plates before solidifying and rotated clockwise and anticlockwise for five times and allowed to solidify (carried out by pour plate technique) and incubated for 24 hrs at 37°C. Then the numbers of viable bacterial colonies were counted in CFU ml^{-1}.

Analysis of Exhaust Soak Liquor Generated

COD

COD of soak liquors was determined according to ISO 15705:2002. To the soak liquor (2.5 ml) a pinch of mercuric sulphate was added, followed by 1.5 ml of potassium dichromate and digested at 148°C for 2 hrs in COD digester. The digested solution with 3 or 4 drops of Ferroin indicator was titrated against Ferrous Ammonium Sulphate (FAS). The results are reported in mg l^{-1}.

şi s-a amestecat bine. Apoi eprubetele au fost introduse într-o baie de apă la 60°C timp de 20 minute şi apoi s-au răcit cu apă de la robinet timp de 5 minute. Absorbanţa soluţiei s-a determinat spectrofotometric la 557 nm. Valorile hidroxiprolinei pot fi determinate direct din curba standard. Rezultatele sunt exprimate în µg ml^{-1}.

Estimarea proteinei

Soluţia de supernatant (1 ml) s-a obţinut după suspendarea probei de piele experimentală în apă distilată de zece ori. Peste proba de supernatant s-a adăugat reactiv alcalin sulfat de cupru şi s-a amestecat bine, apoi s-a incubat la temperatura camerei timp de 10 minute. S-au adăugat 0,2 ml de soluţie Folin-Ciocalteu şi s-a incubat timp de 30 minute, apoi s-a citit spectrofotometric la 600 nm [30]. Rezultatele sunt exprimate în mg ml^{-1}.

Studiu microbian

Determinarea încărcării bacteriene

Pielea experimentală conservată (10 g) a fost suspendată în 90 ml de apă distilată sterilă şi s-a menţinut într-un agitator orbital la 40-50 rpm timp de 30 minute. Soluţia de suspensie (1 ml) a fost diluată în serie în 9 ml de soluţie salină normală până la o diluare de 10^{-3}. Din eprubeta cu soluţie diluată s-a turnat 0,1 ml în plăci cu agar steril înainte de solidificare şi s-au rotit în sens orar şi antiorar de cinci ori, apoi s-au lăsat să se solidifice (prin tehnica de turnare în placă) şi s-au incubat timp de 24 ore la 37°C. Apoi, s-au numărat coloniile de bacterii viabile în CFU ml^{-1}.

Analiza apei reziduale de la înmuiere

Consumul chimic de oxigen (CCO)

CCO al efluenţilor de la înmuiere a fost determinat în conformitate cu ISO 15705:2002. Peste soluţia de înmuiere (2,5 ml) s-a adăugat puţin sulfat mercuric, urmat de 1,5 ml de dicromat de potasiu şi s-a digerat la 148°C, timp de 2 ore în digestorul CCO. Soluţia digerată cu 3 sau 4 picături de indicator Ferroin a fost titrată cu sulfat de amoniu feros (FAS). Rezultatele sunt raportate în mg l^{-1}.

$$\text{COD} / \textit{CCO} = \frac{\text{(B – T) x Normality of FAS x 8 x 1000 x Dilution Factor (mg l}^{-1}\text{)} \;/\; \textit{(B – T) x normalitatea FAS x 8 x 1000 x factorul de diluţie (mg l}^{-1}\textit{)}}{\text{Sample volume} \;/\; \textit{Volum probă}} \quad (2)$$

where, B = Water Blank; T = Test Sample

unde B = proba de apă martor; T = proba de testat

TDS

An evaporating dish was washed three times and dried. The soak liquor was stirred, 50 ml of sample was pipetted out and filtered using a filter paper. The filtrate was transferred onto the dried dish in hot air oven, which was then cooled down in a desiccator and weighed. The result was expressed in mg l^{-1}.

Substanţe solubile totale (TDS)

S-a spălat de trei ori o capsulă de evaporare şi s-a uscat. S-a agitat lichidul de înmuiere, s-au luat cu o pipetă 50 ml de probă şi s-au filtrat folosind hârtie de filtru. Filtratul a fost transferat în capsula uscată în cuptorul cu aer cald şi a fost apoi răcit într-un desicator şi cântărit. Rezultatul a fost exprimat în mg l^{-1}.

$$\text{TDS in mg l}^{-1}\text{= (A-B) x 1000/Volume of sample taken} \;/\; \textit{TDS în mg l}^{-1}\textit{= (A-B) x 1000/Volumul probei studiate} \quad (3)$$

where, A = weight of dried residue + dish, mg; B = weight of dish, mg.

unde A = greutatea reziduului uscat + capsulă, mg; B = greutatea capsulei, mg.

TS (Total Solids)

Empty weight of a clean dry dish was taken. With constant stirring 50 ml of the soak liquor sample was taken a dry dish. The content was evaporated in hot air oven and cooled. The dry weight of the dish was expressed in mg l^{-1}.

Substanţe solide totale (TS)

S-a cântărit greutatea unei capsule curate şi uscate. Agitând constant, s-au luat 50 ml din proba de efluent de la înmuiere într-o capsulă uscată. Conţinutul a fost evaporat în cuptorul cu aer cald şi s-a răcit. Greutatea uscată a capsulei a fost exprimată în mg l^{-1}.

$$\text{TS in mg l}^{-1}\text{= (A-B) x 1000/Volume of sample taken} \;/\; \textit{TS în mg l}^{-1}\textit{= (A-B) x 1000/ Volumul probei studiate} \quad (4)$$

where, A = weight of dried residue + dish, mg; B = weight of dish, mg.

unde A = greutatea reziduului uscat + capsulă, mg; B = greutatea capsulei, mg.

Leather Quality Analysis

Physical Characteristics of Crust Leathers

The leather samples made from control and experimental samples were taken for physical testing measurements and the samples were cut from the official sampling position (IUP 2 method). The leather samples were conditioned at 20±2°C and 65±4% RH for 48 hours before the study. The tensile strength, elongation at break, tear strength and grain crack

Analiza calităţii pielii

Caracteristicile fizice ale pieilor crust

Probele de piele finită realizate din probele martor şi din cele experimentale au fost supuse încercărilor fizice, probele fiind tăiate conform metodei oficiale de prelevare (metoda IUP 2). Probele de piele au fost condiţionate la 20±2°C şi 65±4% RH timp de 48 de ore înainte de studiu. S-au determinat rezistenţa la rupere, alungirea la rupere, rezistenţa la sfâşiere şi rezistenţa

strength were measured as per IUP 6, IUP 8 and IUP 9 methods respectively.

Estimation of Colour Difference

The control and optimized experimental crust leathers were subjected to the reflectance measurements using a Milton Roy colour mate HDS instrument. Colour measurement (L, a, b, h and C) was recorded and the total colour difference (ΔE) and hue difference (ΔH) were calculated using the following equations:

feţei la crăpare conform metodelor IUP 6, IUP 8, respectiv IUP 9.

Estimarea diferenţei de culoare

Pieile crust martor şi cele experimentale optimizate au fost supuse măsurătorilor de reflectanţă folosind un instrument HDS Milton Roy de determinarea culorii. Măsurarea culorii (L, a, b, h şi C) a fost înregistrată, iar diferenţa de culoare totală (ΔE) şi diferenţa de nuanţă (ΔH) s-au calculat cu ajutorul următoarelor ecuaţii:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad (5)$$

$$\Delta H = \sqrt{\Delta E^2 - \Delta L^2 - \Delta C^2} \quad (6)$$

where ΔE = Overall colour difference; ΔL = Lightness difference; Δa and Δb = difference of 'a' and 'b' values, where 'a' represents the red and green axis and 'b' represents the yellow and blue axis; ΔH, hue difference, ΔC, chromaticity difference.

unde ΔE = diferenţa de culoare în ansamblu; ΔL = diferenţa de luminozitate; Δa şi Δb = diferenţa valorilor „a” şi „b”, unde „a” reprezintă axa roşu-verde, iar „b” reprezintă axa galben-albastru; ΔH = diferenţa de nuanţă, ΔC = diferenţa cromatică.

RESULTS AND DISCUSSION

The leaf extracts of *Cassia fistula* and *Psidium guajava* were studied for their antibacterial activities against collagen degrading bacteria. The ethanol, hexane and water extracts of *Cassia fistula* and *Psidium guajava* leaf were dark brown, dark green and brown in colour. The Ethanol, Hexane and water extracts of *Psidium guajava* leaf appeared to be dark brown, dark green and brown in colour respectively.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

S-au studiat extractele de frunze de *Cassia fistula* şi *Psidium guajava* în privinţa activităţii antibacteriene a acestora împotriva bacteriilor care degradează colagenul. Extractele în etanol, hexan şi apă ale frunzelor de *Cassia fistula* şi *Psidium guajava* au avut culorile maro închis, verde închis şi maro. Extractele în etanol, hexan şi apă din frunzele de *Psidium guajava* au avut culorile maro închis, verde închis, respectiv maro.

Table 1: Antibacterial activity of *Cassia fistula* extracts
Tabelul 1: Activitatea antibacteriană a extractelor de *Cassia fistula*

Name of the bacteria *Denumirea bacteriei*	Zone of clearance in mm *Zona de inhibiţie în mm*		
	Ethanol *Etanol*	Hexane *Hexan*	Water *Apă*
Bacillus sp.	1.5	1.3	NIL*
Klebsiella sp.	1.9	0.9	NIL*
Proteus sp.	1.5	1.2	0.8

*NIL - No clear zone was noted
**NIL - Nu s-a observat o zonă de inhibiţie clară*

Table 2: Antibacterial activity of *Psidium guajava* extracts
Tabelul 2: Activitatea antibacteriană a extractelor de *Psidium guajava*

Name of the bacteria *Denumirea bacteriei*	Zone of clearance in mm *Zona de inhibiţie în mm*		
	Ethanol *Etanol*	Hexane *Hexan*	Water *Apă*
Bacillus sp.	2.3	1.1	NIL*
Klebsiella sp.	1.9	1.1	NIL*
Proteus sp.	1.7	2	1.2

*NIL - No clear zone was noted
**NIL - Nu s-a observat o zonă de inhibiţie clară*

The study on antibacterial activity of *Cassia fistula* and *Psidium guajava* extracts are recorded in Tables 1 and 2 respectively. From the results, it is evident that there is a good antibacterial activity for Ethanolic extracts of *Cassia fistula* and *Psidium guajava* as seen from their zone of clearance of 1.5 mm and 2.3 mm, respectively, against *Bacillus* sp. The Ethanolic extracts of *Cassia fistula* and *Psidium guajava* leaves produced a zone of clearance of 1.9 mm against *Klebsiella* sp also. The Ethanolic extract of *Cassia fistula* leaves and the Hexane extract of *Psidium guajava* leaves displayed 1.5 mm and 2.0 mm zones of clearance, respectively, against *Proteus* sp. Thus, the antibacterial study revealed significant antibacterial activity of *Cassia fistula* and *Psidium guajava* against bacteria isolated from skins showing collagenolytic and gelatine liquefying behaviours. Studies by Nayan R. Bhalodia and V. J. Shukla [31] have also shown the antibacterial potential of *Cassia fistula* against Gram positive and Gram negative bacteria. Biswas *et al.* [32] have studied and shown the antibacterial activity of *Psidium guajava* against Gram positive and Gram negative bacteria. Thus, evidences in general and our own experiments in specific stamp the candidacy of *Cassia fistula* and *Psidium guajava* as potential preservants of skin against bacterial invasion.

Rezultatele studiului privind activitatea antibacteriană a extractelor de *Cassia fistula* şi *Psidium guajava* sunt prezentate în Tabelele 1 şi 2. Rezultatele arată clar că extractele etanolice de *Cassia fistula* şi *Psidium guajava* au o activitate antibacteriană bună, aşa cum se vede din zona de inhibiţie de 1,5 mm, respectiv 2,3 mm, împotriva *Bacillus* sp. De asemenea, extractele etanolice de *Cassia fistula* şi *Psidium guajava* au determinat o zonă de inhibiţie de 1,9 mm împotriva *Klebsiella* sp. Extractul etanolic de *Cassia fistula* şi extractul în hexan al *Psidium guajava* au prezentat o zonă de inhibiţie de 1,5 mm, respectiv 2,0 mm, împotriva *Proteus* sp. Astfel, studiul antibacterian a relevat activitatea antibacteriană semnificativă a extractelor de *Cassia fistula* şi *Psidium guajava* împotriva bacteriilor izolate din piei care prezintă comportament de lichefiere a colagenului şi gelatinei. Studiile efectuate de către Nayan R. Bhalodia şi V. J. Shukla [31] au arătat, de asemenea, potenţialul antibacterian al *Cassia fistula* împotriva bacteriilor Gram pozitive şi Gram negative. Biswas şi colab. [32] au studiat şi demonstrat activitatea antibacteriană a *Psidium guajava* împotriva bacteriilor Gram pozitive şi Gram negative. Astfel, dovezile existente, în general, şi propriile noastre experimente, în particular, demonstrează potenţialul extractelor de *Cassia fistula* şi *Psidium guajava* de a conserva şi proteja pielea împotriva invaziei bacteriene.

Table 3: Concentration of salt and *Cassia fistula* extract, *Psidium guajava* extracts applied on the skin based on its green weight
Tabelul 3: Concentraţia de sare şi extracte de *Cassia fistula* şi *Psidium guajava* aplicate pe piele relativ la greutatea pielii crude

Sample no. *Nr. probă*	% based on green weight of the skin *% relativ la greutatea pielii crude*		
	Salt % *Sare %*	Leaves extract % *Extract plante % (Cassia Fistula)*	Leaves extract % *Extract plante % (Psidium guajava)*
1	40	Nil *Nul*	Nil *Nul*
2	15	15	Nil *Nul*
3	15	10	Nil *Nul*
4	15	5	Nil *Nul*
5	10	15	Nil *Nul*
6	10	10	Nil *Nul*
7	10	5	Nil *Nul*
8	5	15	Nil *Nul*
9	5	10	Nil *Nul*
10	5	5	Nil *Nul*
11	15	Nil *Nul*	15
12	15	Nil *Nul*	10
13	15	Nil *Nul*	5
14	10	Nil *Nul*	15
15	10	Nil *Nul*	10
16	10	Nil *Nul*	5
17	5	Nil *Nul*	15
18	5	Nil *Nul*	10
19	5	Nil *Nul*	5

In the experiments, the *Cassia fistula* and *Psidium guajava* with different combinations of salt as mentioned in Table 3 were preserved for 21 days. During the organoleptic evaluation of the experimental skins preserved with the paste of *Cassia fistula* and *Psidium guajava* showed hair slip, smell and putrefaction on the 3rd day for samples 5, 8, 9, 10, hence were discarded. But there was no hair slip, smell and putrefaction for samples no. 1, 2, 3, 4, 6, 7 and 11, hence they were preserved for 21 days. These observations indicate the autolysis and bacterial degradation of experimental skins. The skins were monitored and studies were carried out in the incubation periods. It seemed that 15% leaves extract with 15% salt and 10% leaves extract with 10% salt gave the satisfactory preservation system.

În experimentele de faţă, pieile au fost conservate timp de 21 de zile utilizând *Cassia fistula* şi *Psidium guajava* în diferite combinaţii cu sare, aşa cum se menţionează în Tabelul 3. În urma evaluării organoleptice a pieilor experimentale conservate cu pastă de *Cassia fistula* şi *Psidium guajava* s-au observat căderea părului, miros şi putrefacţie în a 3-a zi în cazul probelor 5, 8, 9, 10; prin urmare, acestea au fost eliminate. Pe de altă parte, în cazul probelor 1, 2, 3, 4, 6, 7 şi 11 nu s-au observat căderea părului, miros şi putrefacţie; prin urmare, aceste probe au fost conservate timp de 21 de zile. Aceste observaţii indică autoliza şi degradarea bacteriană a pieilor experimentale. Pieile au fost monitorizate şi s-au efectuat studii în perioadele de incubaţie. Sistemul de conservare satisfăcător a constat în combinarea a 15% extract de frunze cu 15% sare şi 10% extract de frunze cu 10% sare.

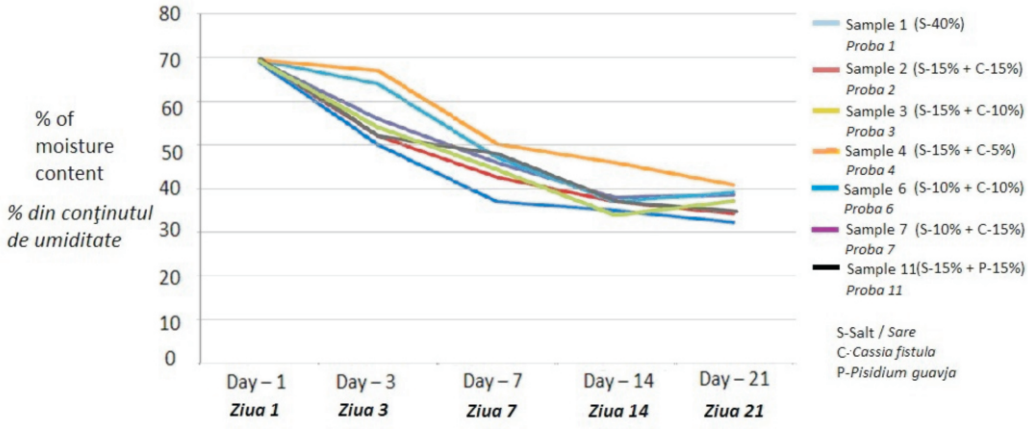


Figure 1. Moisture content of the experimental skins in percentage
Figura 1. Conţinutul de umiditate al pieilor testate, exprimat în procente

From the Figure 1, it is seen that the moisture contents of experimental skins were around 70% on the first day and there was a steady decrease in the moisture contents of up to 40% after 21 days of preservation. The moisture content of the skin is a crucial factor as the microbes like bacteria need moisture for their growth and survival. Whereas the conventional salt cured skins showed up to 30% reduction in the moisture content after 21 days of preservation, similar experiments carried out with Para Chloro Meta Cresol (PCMC) also were reported to show a 40% reduction in moisture content [33]. Salt based preservation is efficient because of

Din Figura 1 se observă că, în cazul pieilor experimentale, conţinutul de umiditate a fost de aproximativ 70% în prima zi şi a existat o scădere constantă a conţinutului de umiditate de până la 40% după 21 de zile de conservare. Conţinutul de umiditate al pielii este un factor decisiv, întrucât microbii precum bacteriile au nevoie de umiditate pentru a creşte şi supravieţui. Întrucât pieile conservate în mod tradiţional cu sare au prezentat o reducere de până la 30% a conţinutului de umiditate după 21 de zile de conservare, au fost raportate experimente similare efectuate cu para-clor-meta-crezol (PCMC), care prezintă o reducere de 40% a conţinutului de umiditate [33]. Conservarea pe

the dual role of salt as dehydrant and bacteriostat. This shows the tenacity of the proposed less salt, phytobased preservation in dehydrating the moisture contents of the skins as low as the other methods of preservation in literature.

The soluble protein content of the experimental skins and conventional salt cured skins are depicted in Fig 2.

bază de sare este eficientă datorită rolului dublu al sării ca deshidratant şi bacteriostatic. Acest lucru arată tenacitatea metodei de conservare propuse, pe bază de plante şi cu mai puţină sare, la deshidratarea pieilor, comparabilă cu celelalte metode de conservare din literatură.

Conţinutul de proteină solubilă al pieilor experimentale şi al celor conservate convenţional cu sare este ilustrat în Figura 2.

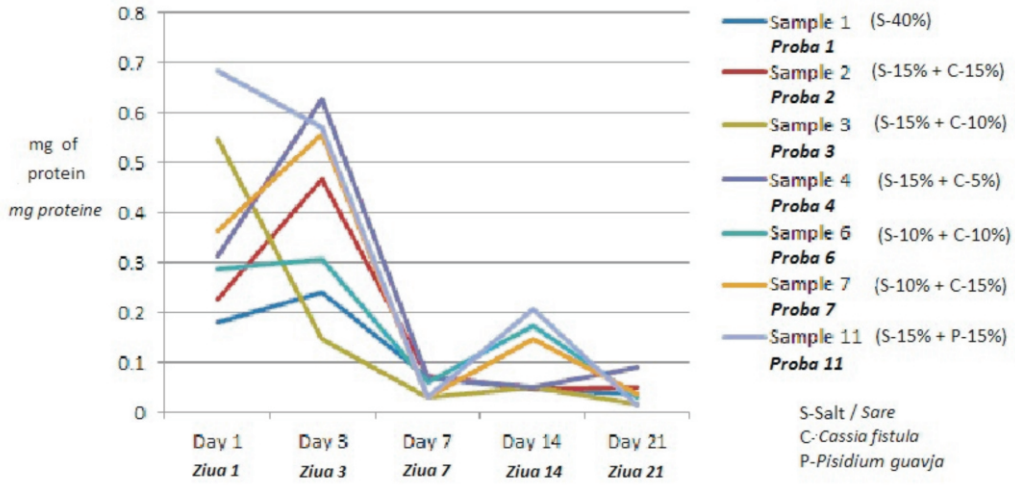


Figure 2. Determination of Soluble Protein content in phyto-preserved goat skins

Figura 2. Determinarea conţinutului de proteine solubile al pieilor de capră conservate cu ajutorul plantelor

The soluble proteins in the aqueous extract of the preserved skins indicate the extent of deterioration of the skin proteins. From the results, the soluble protein levels were found to be reducing below 0.1 mg g^{-1} of the skin on the 21st day. Only the guava preserved skins with 15% leaf extract and 15 % salt showed just over 0.2 mg g^{-1} of the skin on the 14th day but it eventually reduced further on the 21st day. The Cassia fistula preserved skins showed remarkable reduction in soluble protein content by the 21st day even that being superior to Guava leaves. Thus the antimicrobial effect of both Cassia and Guava during preservation was manifested in the aqueous extracts of the preserved skins samples in a brilliant fashion.

The total content of collagen in the skin can be measured by evaluating the hydroxyproline content. Thus, by measuring the hydroxyproline content in the aqueous extracts of skins, the efficacy of preservation can be determined. The release of hydroxyproline in the aqueous extracts of the experimental skins is presented in Figure 3.

Proteinele solubile din extractul apos al pieilor conservate indică gradul de deteriorare a proteinelor pielii. Din rezultate, s-a constatat reducerea nivelurilor de proteine solubile sub 0,1 mg g^{-1} în ziua 21. Doar pieile conservate cu 15% extract de frunze de guava şi 15% sare au prezentat puţin peste 0,2 mg g^{-1} în ziua a 14-a, dar în cele din urmă s-a redus şi mai mult în ziua 21. Pieile conservate cu *Cassia fistula* au prezentat o reducere remarcabilă a conţinutului de proteină solubilă până în ziua 21, fiind superioare celor tratate cu frunze de guava. Astfel, efectul antimicrobian al extractelor de cassia şi guava în timpul conservării a fost excelent în extractele apoase ale probelor de piei conservate.

Conţinutul total de colagen al pieilor poate fi măsurat prin evaluarea conţinutului de hidroxiprolină. Astfel, prin măsurarea conţinutului de hidroxiprolină din extractele apoase ale pieilor, poate fi determinată eficacitatea conservării. Hidroxiprolina eliberată în extractele apoase ale pieilor experimentale este prezentată în Figura 3.

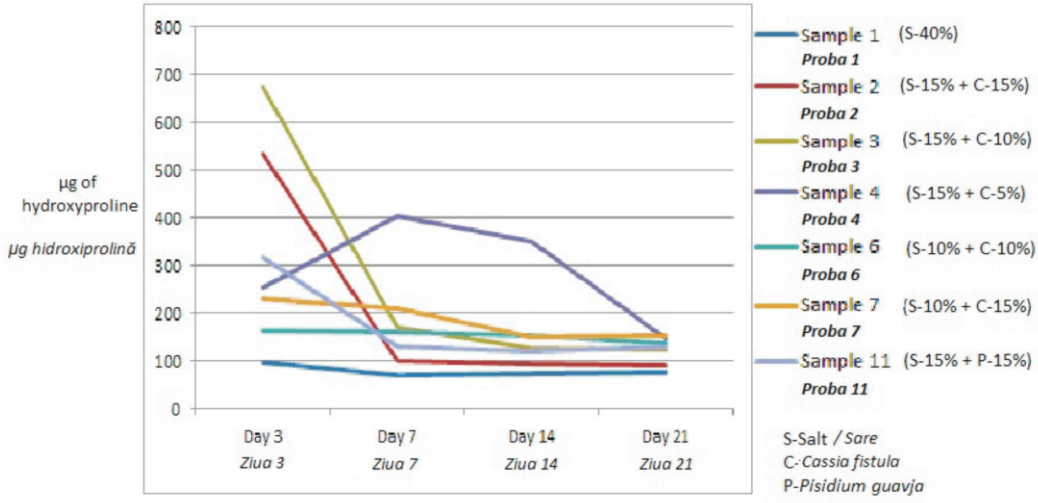


Figure 3. Determination of Soluble Hydroxyproline estimation from phyto-preserved goat skins
Figura 3. Determinarea hidroxiprolinei solubile estimate din pieile de capră conservate cu ajutorul plantelor

The release of hydroxyproline in the aqueous extracts of skins was found to be low in all the samples (below 500 µg g^{-1} of skin) on the 21st day, in general. The inefficacy of preservation will be indicated with the maximum hydroxyproline release in the aqueous extracts of skins. This implies also to any microbial attack or degradation of the skin by external factors. Hence, the results prove the efficacy of preservation by *Cassia fistula* and guava with the proposed less salt preservation.

În general, eliberarea de hidroxiprolină în extractele apoase ale pieilor s-a dovedit a fi scăzută în cazul tuturor probelor (sub 500 µg g^{-1} din piele), în ziua 21. Ineficacitatea conservării va fi indicată de eliberarea maximă de hidroxiprolină în extractele apoase ale pieilor. Acest lucru este valabil, de asemenea, şi pentru orice tip de atac microbian sau degradare a pielii cauzată de factori externi. Prin urmare, rezultatele dovedesc eficacitatea conservării propuse cu extracte de *Cassia fistula* şi guava şi mai puţină sare.

Table 4: Determination of bacterial count from skin sample
Tabelul 4: Determinarea numărului de bacterii din probele de piei

Name of the plant *Denumirea plantei*	Sample no. *Nr. probă*	10^{-3} dilution CFU ml^{-1} *Diluţie 10^{-3}, CFU ml^{-1}*				
		Day 1 *Ziua 1*	Day 3 *Ziua 3*	Day 7 *Ziua 7*	Day 14 *Ziua 14*	Day 21 *Ziua 21*
Control *Martor*	1	10	4	2	2	NIL*
Cassia fistula	2	40	8	8	8	NIL*
Cassia fistula	3	56	40	20	NIL*	NIL*
Cassia fistula	4	40	36	8	4	NIL*
Cassia fistula	6	8	8	4	4	NIL*
Cassia fistula	7	12	12	4	4	NIL*
Guava	11	64	52	24	4	NIL*

*NIL - Zero number of colonies
**NIL - Zero colonii*

The bacterial load on samples from preserved skins is a direct indicator of putrefaction. In other words, the load indicates also the efficiency of preservation. Table 4 shows the bacterial population of control and experimental skins at different time intervals till the 21st day of preservation. The results indicate that the colonies of bacteria were reducing in the skin samples as the preservation duration increased. Ultimately, there was no growth of colonies by the 21st day because of the synergistic action of the antibacterial activity of *Cassia fistula*, *Psidium guajava* and bacteriostatic activity of salt. Thus the efficiency of preservation with cleaner phyto-preservation employed in this study stands certified.

Încărcătura bacteriană a probelor de piei conservate este un indicator direct al putrefacţiei. Cu alte cuvinte, încărcătura bacteriană indică, de asemenea, eficienţa conservării. Tabelul 4 prezintă populaţia bacteriană a pieilor martor şi a celor experimentale la diferite intervale de timp până în ziua 21 de conservare. Rezultatele indică reducerea coloniilor de bacterii din probele de piele odată cu creşterea duratei de conservare. În cele din urmă, în ziua 21 nu s-a observat o creştere a coloniilor datorită acţiunii sinergice a activităţii antibacteriene a *Cassia fistula*, *Psidium guajava* şi activităţii bacteriostatice a sării. S-a dovedit astfel eficienţa metodei ecologice de conservare pe bază de plante experimentate în acest studiu.

Table 5: TDS, TS & COD in soaked liquor
Tabelul 5: TDS, TS şi CCO în lichidul de înmuiere

TDS mg l^{-1}	TS mg l^{-1}	COD mg l^{-1} *CCO mg l^{-1}*
21	22	288

The soak liquors were collected and tested for their TDS, TS and COD. The results showed that the TDS of the soak liquors of our phyto-based preserved skins got significant reduced. According to Springer and his colleagues [34], cost effective solutions to the TDS problem through either avoidance or end of pipe treatment are not yet forthcoming. Our preservation method is one such effort towards avoiding the TDS in the source itself. TS values using the phyto-based preservation method did not exceed the permissible TS level of 110 mg l^{-1} is also shown in the Table 5. These solid impurities cause turbidity in the receiving streams. COD level from soaking was 288 mg l^{-1} and was within the permissible COD level of (50-450) mg l^{-1} [35] this indicates that the effluent is suitable to be let out into natural streams without affecting the aquatic organisms. Thus the phyto-preserved skins leave significantly lower TDS, TS and COD in the soak liquor making it a clear case of a cleaner way of preservation.

Efluentul de la înmuiere a fost colectat şi testat în vederea determinării TDS, TS şi CCO. Rezultatele au arătat că TDS al efluentului de la înmuierea pieilor conservate pe bază de plante s-a redus semnificativ. Potrivit lui Springer şi colab. [34], soluţii ieftine pentru problema TDS fie prin evitare, fie prin depoluare la capătul liniei nu sunt încă accesibile. Metoda noastră de conservare reprezintă un astfel de efort în vederea evitării prezenţei TDS. Valorile TS obţinute în urma utilizării metodei de conservare pe bază de plante nu au depăşit nivelul admis, de 110 mg l^{-1}, fiind, de asemenea prezentate în Tabelul 5. Aceste impurităţi solide cauzează turbiditate în cursurile de apă receptoare. Nivelul CCO al lichidului de înmuiere a fost de 288 mg l^{-1}, încadrându-se în nivelul CCO admisibil (50-450) mg l^{-1} [35], ceea ce indică faptul că este recomandat ca efluentul să fie deversat în cursuri de apă naturale, fără a afecta organismele acvatice. Astfel, pieile conservate cu ajutorul plantelor duc la valori semnificativ mai mici ale TDS, TS şi CCO în lichidul de înmuiere, arătând în mod clar că este o metodă mai curată de conservare.

Table 6: Physical properties of control and experimental leather
Tabelul 6: Proprietăţile fizice ale pieilor martor şi cele experimentale

No. *Nr. crt.*	Properties *Proprietăţi*	Sample 1 Control *Proba 1 Martor*	Sample 2 *Proba 2*	Sample 3 *Proba 3*	Sample 4 *Proba 4*	Sample 6 *Proba 6*	Sample 7 *Proba 7*	Sample 11 *Proba 11*
1.	Tensile strength, N mm^{-2} *Rezistenţa la rupere, N mm^{-2}*							
	Along *În lungime*	20.2	18.9	22.2	23.5	21.1	13.1	13.0
	Across *Transversal*	17.1	10.1	21.1	13.2	7.2	11.1	19.4
	Elongation at break, % *Alungirea la rupere, %*							
	Along *În lungime*	77	68.2	55.2	56	58.5	51.7	45.2
	Across *Transversal*	67.5	39.2	71.2	83	60.0	80.3	79.8
2.	Tear strength, N *Rezistenţa la sfâşiere, N*							
	Along *În lungime*	43.3	45.6	57.1	54.4	38.7	40.6	53.2
	Across *Transversal*	41.0	36.6	41.9	50.6	37.2	31.3	48.5
	Thickness, mm *Grosime, mm*	0.7	0.8	0.63	0.65	0.72	0.86	0.80
3.	Lastometer *Dinamometru*							
	Load at grain crack, kg *Crăparea feţei la tracţiune, kg*	20	23	14	16	18	17	20
	Distension at grain crack, mm *Alungire la crăparea feţei, mm*	9.3	9.2	6.8	8.6	9.1	10.3	9.5

The physical strength properties of the experimental skins such as the tensile strength and elongation at break showed comparable results with the control and were found satisfactory (Table 6). Except for the neck portions of the leathers, tensile strength and tear load values of the experimental leathers were commensurate for upper leather. However, grain cracking property was observed to be comparable in all experimental leathers to the standards advised for upper leathers.

Proprietăţile de rezistenţă fizică ale pieilor experimentale, cum ar fi rezistenţa la rupere şi alungirea la rupere au prezentat rezultate comparabile cu probele martor şi au fost considerate satisfăcătoare (Tabelul 6). Cu excepţia porţiunilor de piele din zona gâtului, rezistenţa la rupere şi la sfâşiere ale pieilor experimentale au fost corespunzătoare pieilor pentru feţe de încălţăminte. Cu toate acestea, proprietatea de crăpare a feţei s-a constatat a fi comparabilă în cazul tuturor pieilor experimentale la standardele recomandate pentru feţe de încălţăminte.

Table 7: Total colour difference values of control and experimental leathers
Tabelul 7: Valorile totale ale diferenţei de culoare pentru pieile martor şi cele experimentale

Sample No. *Nr. probă*	L	A	B	C	H	DL
1 - Control *1 - Martor*	69.790	-4.774	56.722	57.5	92.537	10.545
2	66.356	-3.22	47.808	47.916	93.888	7.111
3	69.936	-2.914	58.162	58.235	92.903	10.691
4	69.08	-4.77	49.501	49.731	95.54	78.23
5	68.96	-2.2	56.72	58.65	92.25	9.715
6	69.36	-4.13	54.48	54.64	94.37	10.12
7	71.48	-4.81	55.173	55.23	95.04	7.28

The leathers from the experimental and control skins were subjected to colour test. This test is performed to check the colour properties as some of the constituents in the plants like tannins may affect the colour of the leather during the process. The colour testing results in terms of colour and colour difference values of the control and experimental leathers are presented in Table 7. From the ΔL and ΔC values shown in the Table 7, it was observed that there was no major difference in the darkness value (ΔL) and colour intensity value (ΔC) between control and experimental leathers.

Pieile finite realizate din probele de piei experimentale şi martor au fost supuse testului de culoare. Acest test este efectuat pentru a verifica proprietăţile de culoare, întrucât unii dintre constituenţii plantelor, cum ar fi taninurile, pot afecta culoarea pielii în timpul procesului. Rezultatele testelor de culoare pentru a determina valorile diferenţei de culoare ale pieilor martor şi ale celor experimentale sunt prezentate în Tabelul 7. Din valorile ΔL şi ΔC prezentate în Tabelul 7, s-a observat că nu a existat nicio diferenţă majoră în ceea ce priveşte valoarea luminozităţii (ΔL) şi valoarea intensităţii culorii (ΔC) între pieile martor şi cele experimentale.

CONCLUSION

In the current investigation, *Cassia fistula* and *Psidium guajava* have been selected because of their excellent antibacterial and antifungal properties. The pastes of *Cassia fistula* leaves and *Psidium guajava* leaves along with reduced salt were found to preserve freshly flayed raw goat skins for 21 days. Especially 15% paste of *Cassia fistula* leaves and 15% paste of *Psidium guajava* leaves with 15% salt (based on green weight) proved very effective Phyto-based preservation combinations. The present study suggests the use of these leaves as alternate curing agents in combination with common salt reducing TDS and COD significantly in the soak liquor. The preserved experimental skins and control (40% salt based on green weight) were processed into leathers and showed comparable

CONCLUZII

În investigaţia de faţă, *Cassia fistula* şi *Psidium guajava* au fost selectate datorită proprietăţilor lor antibacteriene şi antifungice excelente. S-a constatat că pastele din frunze de *Cassia fistula* şi *Psidium guajava*, împreună cu o cantitate redusă de sare sunt adecvate pentru conservarea, timp de 21 de zile, a pieilor de capră crude proaspăt jupuite. În special, combinaţia de 15% pastă din frunze de *Cassia fistula* şi 15% pastă din frunze de *Psidium guajava* cu 15% sare (în funcţie de greutatea pielii crude) s-a dovedit a fi foarte eficientă pentru conservare. Studiul de faţă sugerează utilizarea acestor frunze ca agenţi de conservare alternativi, în combinaţie cu sare obişnuită, ducând la reducerea semnificativă a TDS şi CCO în lichidul de înmuiere. Pieile experimentale şi cele martor conservate (40% sare în funcţie de greutatea pielii crude) au fost prelucrate până la stadiul de piele

properties which is evident from the physical testing and colour testing values. Further studies aimed at the isolation of bioactive compounds from the crude extracts are in progress to intensify the curing process as such. Thus, a new vista in curing the raw skins and hides averting pollution caused by common salt in tanneries unfurls leading to the development of a cleaner curing technology.

finită şi au prezentat proprietăţi comparabile, după cum reiese clar din valorile obţinute la testarea proprietăţilor fizice şi la testarea culorilor. Studii suplimentare care vizează izolarea compuşilor bioactivi din extractele brute sunt în curs de desfăşurare pentru a intensifica procesul de conservare. Astfel, se naşte o nouă viziune privind conservarea pieilor crude care evită poluarea cu sare în tăbăcării şi care duce la dezvoltarea unei tehnologii mai curate de conservare.

Acknowledgements

The authors thank ZERIS, a XII Five year plan network project of CSIR-CLRI for the funding supports. The authors thank Mrs. Malathy Jawahar, CSIR-CLRI, for her support in colour testing, Mr. Mohan, CSIR-CLRI, for his support in physical testing of leather samples and Dr. Ramesh Kannan, CSIR-CLRI, for his support in the initial screening of plants, and the student interns Swetha, S.K. and Surekha, K.

Mulţumiri

Autorii mulţumesc proiectului ZERIS al CISR-CLRI, un proiect de reţea pe baza unui plan pe cinci ani, pentru sprijinul financiar. Autorii mulţumesc doamnei Malathy Jawahar, CISR-CLRI, pentru sprijinul acordat la testarea culorii, domnului Mohan, CISR-CLRI, pentru sprijinul acordat la testarea fizică a probelor de piele, Dr. Ramesh Kannan, CISR-CLRI, pentru sprijinul acordat la selectarea iniţială a plantelor,şi studenţilor stagiari Swetha, S.K. şi Surekha, K.

REFERENCES

1. Cassano, A., Molinari, R., Romano, M., Drioli, E., Treatment of aqueous effluents of the leather industry by membrane processes: A review, *J Membr Sci*, **2001**, 181, 1, 111-126.
2. Kanagaraj, J., Chandra Babu, N.K., Alternatives to Salt Curing Techniques – A Review, *J Sci Ind Res*, **2002**, 61, 339-348.
3. Hausam, W., Behaviour of hide during salting and the action on the hide protein, *J Am Leather Chem As*, **1951**, 35, 44.
4. Rajamani, S., Cleaner tanning technologies in the beam house operation, Proceedings of the Symposium on Cleaner Tanning Technologies, UNIDO, September **1998**, 2, 21-5.
5. Govindasamy, P., Madhavan, S.D., Revathi, S., Shanmugam, P., Performance Evaluation of Common Effluent Treatment Plant for Tanneries at Pallavaram CETP, *J Environ Sci Eng*, **2006**, 48, 3, 213-220.
6. Vlyssides, A.G., Israilides, C.J., Detoxification of tannery waste liquors with an electrolysis system, *Environ Poll*, **1997**, 97, 147.
7. Sadulla, S., Impact of salinity emanating from tannery environment: Leather processing to the ecosystem, in: Agro-based ecotoxicological preview on anthropogenic activities on ecosystem, Ed. Mwinyikione Mwinyihija, Nova Publishers, New York, **2015**, 59-76.
8. Haydar, S., Aziz, J.A., Characterization and treatability studies of tannery wastewater using chemically enhanced primary treatment (CEPT)--a case study of Saddiq Leather Works, *J Hazard Mater*, **2009**, 163, 2-3, 1076-83.
9. Cowan, M.M., Plant products as anti-microbial agents, *Clin Microbiol Rev*, **1999**, 12, 564–82.
10. Dahanukar, S.A., Kulkarni, R.A., Rege, N.N., Pharmacology of Medicinal Plants and Natural Products, *Indian J Pharmacol*, **2000**, 32, 81–118.
11. Vedaraman, N., Bio additive–aided skin preservation – an approach for salinity reduction, *Revista de Pielarie Incaltaminte* (*Leather and Footwear Journal*), **2009**, 9, 4, 251-257.
12. Vijayalakshmi, K., Judith, R., Suseela, R., Novel plant based formulations for short term preservation of animal

skin, *J Sci Ind Res*, **2009**, 68, 699-707.
13. Sivabalan, V., Jayanthi, J., A study to reduce salt usage in preservation of skins and hides with alternate use of plant extract, *ARPN J of Ag Bio Sci*, **2009**, 4, 6, 43-48.
14. Iyappan, K., Ponrasu, T., Sangeethapriya, V., Gayathri, V.S., Suguna, L., An eco-friendly method for short term preservation of skins/hides using Semecarpus anacardium nut extract, *Environ Sci Pollut Res Int*, **2013**, 20, 9, 6324-30.
15. Danish, M., Singh, P., Mishra, G., Srivastava, S., Jha, K.K., Khosa, R.L., Cassia fistula Linn. (Amulthus)- An Important Medicinal Plant: A Review of Its Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacological Properties, *J Nat Prod Plant Resour*, **2011**, 1, 1, 101-118.
16. Tzakou, O., Loukis, A., Said, A., Essential Oil from the Flowers and Leaves of Cassia fistula L., *J Essent Oil Res*, **2007**, 19, 4, 360-361.
17. Mahesh, V.K., Sharma, R., Singh, R.S., Upadhya, S,K., Anthraquinones and kaempferol from Cassia fistula species, *J Nat Prod*, **1984**, 47, 733-751.
18. Morimoto, S., Nonaka, G., Chen, R., Tannins and related compounds, Isolation and structures of novel bi and tri flavonoids from the leaves of Cassia fistula, *Chem Pharmacol Bull*, **1988**, 36, 39-47.
19. Gupta, A.K., Tondon, N., Sharma, M., Quality Standards of Indian Medicinal Plants, Medicinal Plants Unit, Published by Indian Council of Medical Research, **2008**, 2, 47-53.
20. Luximon-Ramma, A., Bahorun, T., Soobrattee, M.A., Aruoma, O.I., Antioxidant activities of phenolic, proanthocyanidins, and flavonoid components in extracts of Cassia fistula, *J Agri Food Chem*, **2002**, 50, 5042-5047.
21. Chopra, R.N., Nayar, S.L., Chpora, I.C., Glossary of Indian Medicinal Plants, National Institute of Science Communication and Information Resources, **2006**, p. 54.
22. Perumal, R., Ignacimuthu, S., Sen, A., Screening of 34 medicinal plants antibacterial properties, *J Ethanopharm*, **1998**, 62, 173-182.
23. Phongpaichit, S., Pujenjob, N., Rukachaisirikul, V., Ongsakul, M., Antifungal activity from the leaf extract of Cassia fistula, *J Sci Technol*, **2004**, 26, 5, 741-748.
24. Vasudevan, D.T., Dinesh, K., Gopalakrishnan, S., Shekar, S., The potential of aqueous and isolated fraction from the leaves of Cassia fistula as an antibacterial agent, *Int J Chem Sci*, **2009**, 7, 4, 2363-2367.
25. Okwu, D.E., Ekeke, O., Phytochemical screening and mineral composition of chewing sticks in South Eastern Nigeria, *Global J Pure Appl Sci*, **2003**, 9, 235-238.
26. Gutiérrez, R.M., Mitchell, S., Solis, R.V., Psidium guajava: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology, *J Ethnopharm*, **2008**, 117, 1, 1–27.
27. Trusheva, B., Trunkova, D., Bankova, V., Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study, *Chemistry Central J*, **2007**, 7, 1-13.
28. NCCLS, Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically - approved standard. **1997**. NCCLS document M7-A4. Fourth edition, Approved standard ed., Pennsylvania: NCCLS.
29. Woessner, J.F., Jr., The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this amino acid, *Arch Biochem Biophys*, **1961**, 93, 440-447.
30. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., Protein measurement with the folin's phenol reagent, *J Biol Chem*, **1951**, 193, 265-276.
31. Bhalodia, N.R., Shukla, V.J., Antibacterial and antifungal activities from leaf extracts of Cassia fistula L.: An ethnomedicinal plant, *J Adv Pharm Technol Res*, **2011**, 2, 2, 104–109.
32. Biswas, B., Rogers, K., McLaughlin, F., Daniels, D., Yadav, A., Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (Psidium guajava L.) on Two Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria, *Int J Microbiol*, **2013**, 74, 61-65.
33. Kanagaraj, J., Chandra Babu, N.K., Sadulla, S., Suseela Rajkumar, G., Visalakshi, V., Chandra Kumar, N., Cleaner

techniques for the preservation of raw goat skins, *J Clean Prod*, **2001**, 9, 261-268.
34. Springer, H., John Arthur Wilson Memorial Lecture Treatment of Industrial Wastes of the Leather Industry - is it still a Major ProblemΔ, *J Am Leather Chem As*, **1994**, 89, 153–185.
35. Islam, B.I., Musa, A.E., Ibrahim, E.H., Salma, A.A.S., Elfaki, B.M., Evaluation and Characterization of Tannery Wastewater, *Journal of Forest Products & Industries*, **2014**, 3, 141-150.

Article received/Data primirii articolului: 25.05.2016
Accepted/Acceptat la data: 27.06.2016

THE ELECTRIC ACTIVE STARCH FLOCCULATION OF PROTEIN AND ITS DEGRADATION PRODUCTS IN LEATHER EFFLUENTS

FLOCULAREA PROTEINEI CU AMIDON ACTIV ÎN CÂMP ELECTRIC ŞI PRODUSELE DE DEGRADARE ALE ACESTEIA ÎN EFLUENŢII REZULTAŢI LA PRELUCRAREA PIEILOR

Rui LI[1,2], Yuzeng WANG[1,2], Rui DAI[1,2], Zhihua SHAN[1,2*]

[1]The Key Laboratory of Leather Chemistry and Engineering of Ministry of Education, Sichuan University, Chengdu, 610065, China

[2]College of Light Industry, Textile and Food Engineering, Chengdu, 610065, China

THE ELECTRIC ACTIVE STARCH FLOCCULATION OF PROTEIN AND ITS DEGRADATION PRODUCTS IN LEATHER EFFLUENTS

ABSTRACT. There is a large amount of protein or its degradation products in leather effluents, which are difficult to deal with, such as NH_3-N and SS (suspended solids), etc., so it is significant to remove all the protein residues in effluents and reduce the content of pollutants. This experiment simulates the main effluent compositions which contained protein and its degradation products, and then handled with electrochemical assisted starch flocculate to reduce the content of protein residues in effluents, whilst decreasing the value of COD and BOD. Based on experiment results and the DPS statistical software analysis, the optimal conditions to remove the protein residues would be obtained, among 2.5 g/L protein degradation products, 5 g/L starch content, 5 g/L chloride ion concentration and 20 min electrolysis time, respectively, under which the best removal rate is 36.17%. The flocculation was analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), nanoparticle size potential analyzer (Zeta analyzer) and atomic force microscopy (AFM), and then presumed the removal mechanism of the protein residues in effluents.

KEY WORDS: electrochemistry; starch; flocculation; protein residue removal rate; removal mechanism

FLOCULAREA PROTEINEI CU AMIDON ACTIV ÎN CÂMP ELECTRIC ŞI PRODUSELE DE DEGRADARE ALE ACESTEIA ÎN EFLUENŢII REZULTAŢI LA PRELUCRAREA PIEILOR

REZUMAT. Există o mare cantitate de proteine sau produse de degradare ale acestora în efluenţii rezultaţi la prelucrarea pielii, care sunt dificil de eliminat, cum ar fi NH3-N şi SS (solide în suspensie) etc.; prin urmare, eliminarea tuturor reziduurilor proteice din efluenţi şi reducerea conţinutului de substanţe poluante sunt importante. Acest experiment simulează compoziţiile principalilor efluenţi care conţin proteine şi produse de degradare ale acestora, care sunt apoi tratate prin floculare electrochimică cu ajutorul amidonului pentru a reduce conţinutul de reziduuri proteice din efluenţi, ducând, în acelaşi timp, la scăderea valorilor CCO şi CBO. Pe baza rezultatelor experimentului şi analizei cu software-ul statistic DPS, s-au obţinut condiţiile optime pentru îndepărtarea reziduurilor proteice, pentru 2,5 g/l produse de degradare ale proteinelor, 5 g/l conţinut de amidon, 5 g/l concentraţie de ioni de clorură şi timp de electroliză 20 min, iar cel mai bun grad de eliminare este de 36,17%. Rezultatele floculării au fost analizate prin spectroscopie în infraroşu cu transformată Fourier (FTIR), analiza dimensiunii nanoparticulelor (analizor Zeta) şi microscopie de forţă atomică (AFM), iar apoi s-a dedus mecanismul de îndepărtare a reziduurilor proteice din efluenţi.

CUVINTE CHEIE: electrochimie, amidon, floculare, gradul de eliminare a reziduurilor proteice, mecanism de eliminare

LA FLOCULATION DE LA PROTÉINE PAR L'AMIDON ACTIVE EN CHAMP ÉLECTRIQUE ET SES PRODUITS DE DÉGRADATION DANS LES EFFLUENTS ISSUS DU TRAITEMENT DU CUIR

RÉSUMÉ. Il y a une grande quantité de protéines ou de leurs produits de dégradation dans l'effluent issu du traitement de la peau qui sont difficiles à éliminer, tels que NH3-N et MES (matières en suspension), etc.; donc il est très important d'éliminer tous les résidus protéiques des effluents et de réduire les polluants. Cette expérience simule les compositions des effluents principaux contenant des protéines et leurs produits de dégradation, qui sont ensuite traitées par la floculation électrochimique en utilisant l'amidon pour réduire les déchets protéiques des effluents, ce qui entraîne, en même temps, l'abaissement des valeurs de DCO et DBO. À base des résultats de l'expérience et de l'analyse en utilisant le logiciel statistique DPS, on a arrivé aux conditions optimales pour l'élimination des déchets protéiques à 2,5 g/l produits de dégradation de protéines, 5 g/l teneur en amidon, 5 g/l concentration en ions chlorure et le temps d'électrolyse de 20 min, et le meilleur degré d'élimination est de 36,17%. Les résultats de la floculation ont été analysés par la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), la taille des nanoparticules (l'analyseur Zeta) et la microscopie à force atomique (AFM), puis on a peut déduire le mécanisme d'élimination des résidus protéiques des effluents.

MOTS-CLÉS: électrochimie, amidon, floculation, degré d'élimination des déchets protéiques, mécanisme d'élimination

INTRODUCTION

There is a large amount of Proteins and their Degradation Products (PDPs) in industrial effluents from restaurants, brewing, leather, food processing,

INTRODUCERE

Există o cantitate mare de proteine şi de produse de degradare (PDPs) ale acestora în efluenţii industriali rezultaţi la restaurante, fabricarea berii, prelucrarea

* *Correspondence to: Zhihua SHAN, The Key Laboratory of Leather Chemistry and Engineering of Ministry of Education, Sichuan University, Chengdu 610065, China, Tel:+086-2885407289; fax:+086-2885407289, Email address: 549671254@qq.com*

etc. These proteins and their residues are mainly vegetable proteins, animal proteins or many other proteins, which all have better hydrophilicity and are difficult to deal with in effluents. The PDPs in effluents are the main source of NH_3-N and SS (suspended solids) [1]; if these effluents are not treated by effective ways or are directly discharged, it would very likely break the water ecological balance and affect human health [2-4].

Biochemical treatment methods can easily remove PDPs, but also release NH_3-N and many other pollutants into effluents, causing further processing problems. If we adopt the flocculate method to separate PDPs from the effluents before biochemical treatment, it would greatly improve the efficiency of effluent treatment. Due to the strong hydrophilicity of PDPs, treatment by chemical flocculation is difficult. In this paper the electrochemical oxidation method can be contributed to oxidized starch combined with PDPs and appeared flocculations in effluents. So this experiment investigates the effect factors of electrochemical flocculation to remove PDPs, including the content of starch and protein hydrolytic products, chloride ion concentration, electric processing time. In addition, the versatile regressive rotary compound design was used to set experiments and combined with the experimental results to obtain the optimal composition condition, and also the response surface analysis was used to discuss the relationship between these various factors. At last a hypothesis was formulated for the mechanism of reaction to support the principle of flocculation.

pielii, prelucrarea produselor alimentare etc. Aceste proteine şi reziduurile lor sunt, în principal, proteine vegetale, proteine animale şi multe alte tipuri de proteine, care au o mai bună hidrofilie şi sunt dificil de eliminat din efluenţi. PDPs din efluenţi reprezintă principala sursă de NH_3-N şi SS (solide în suspensie) [1]; dacă aceşti efluenţi nu sunt trataţi prin metode eficiente sau sunt evacuaţi în mod direct, ar putea distruge echilibrul ecologic al apei şi ar putea afecta sănătatea oamenilor [2-4].

Metodele de tratament biochimic pot elimina cu uşurinţă PDPs, însă duc la prezenţa NH_3-N şi a altor poluanţi în efluenţi, cauzând probleme de prelucrare ulterioare. Adoptarea metodei floculării pentru a separa PDPs din efluenţi înainte de a începe tratamentul biochimic ar îmbunătăţi considerabil eficienţa tratării efluenţilor. Din cauza hidrofiliei puternice a PDPs, tratarea prin metoda floculării chimice reprezintă o dificultate. În această lucrare se utilizează metoda oxidării electrochimice pentru a combina amidonul oxidat cu PDPs în vederea aplicării procesului de floculare la efluenţi. Aşadar, prin acest experiment se investighează efectul factorilor floculării electrochimice asupra eliminării PDPs, şi anume, conţinutul de amidon şi produse hidrolitice ale proteinelor, concentraţia de ioni de clorură, timpul de prelucrare electrică. În plus, s-a utilizat designul experimental versatil cu rotaţie prin regresie pătratică în combinaţie cu rezultatele experimentale pentru obţinerea compoziţiei optime, şi, de asemenea, prin intermediul analizei suprafeţei de răspuns s-a discutat relaţia dintre aceşti diverşi factori. În cele din urmă, s-a dedus mecanismul de reacţie pentru a sprijini principiul floculării.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Copper sulfate, soluble starch, sodium potassium tartrate tetrahydrate, sodium hydroxide, potassium iodide, disodium hydrogen phosphate and sodium dihydrogen phosphate are all analytical reagents (AR) from Chengdu Kelon chemical company. The 5 g/L protein degradation solution was achieved by combining 5 g/L protein and 3 g/L sodium hydroxide at 90°C in 2~3 hours until the viscosity turned steadily.

MATERIALE ŞI METODE

Materiale

Reactivii de calitate analitică - sulfat de cupru, amidon solubil, tartrat de sodiu şi potasiu tetrahidrat, hidroxid de sodiu, iodură de potasiu, fosfat acid disodic şi fosfat diacid de sodiu provin de la firma Kelong Chengdu. Soluţia de degradare a proteinei de 5 g/l a fost obţinută prin combinarea a 5 g/l proteină cu 3 g/l hidroxid de sodiu, la 90°C timp de 2~3 ore până când viscozitatea a ajuns la nivel constant.

Equipment

The equipment of electrolytic tank and graphite electrode is designed by myself, with the size of 20×4×4 m, UV-2000 spectrophotometer and AFM are both form Shimadzu; Nano particle and zeta potential analyzer are from UK, FTIR Spectrometer is from American Nicolet company; viscometer is from Shanghai jing co., LTD.

Aparatură

Rezervorul electrolitic şi electrodul de grafit au fost proiectate de echipa noastră, cu dimensiunea de 20 × 4 × 4 m, spectrofotometrele UV-2000 şi AFM au fost achiziţionate de la Shimadzu; analizorul de nanoparticule şi potenţial Zeta provine din Marea Britanie, spectrometrul FTIR a fost achiziţionat de la firma americană Nicolet; viscozimetrul provine de la Shanghai Jing co., LTD.

EXPERIMENTAL

Optimizing the Flocculation Conditions

The graphite plates were taken as positive and negative poles, and then inserted into the wastewater electrolytic cell in which the distance between plates was 4 m, the voltage between two poles was 8~12 V, electric current density was 5~7 mA/cm^2, the initial electrolyte pH value was 6.5 and temperature was 25°C. The operating sequence was the following, as Figure 1 shows: 1) mixed the soluble starch with sodium chloride in a vessel, then mixed uniformly and mutually adsorbed [5]; 2) the mixture composites were pumped into wastewater electrolytic cell by peristaltic pump; 3) mixture solution flowed and passed through the electrolytic cell under the electric field; 4) then used a reservoir to store the effluents and keep static for 4 h; 5) picked the supernatant solution to analyze and then calculated the removal rate of protein hydrolysate products.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Optimizarea condiţiilor de floculare

S-au luat plăcile de grafit ca poli pozitivi şi negativi şi s-au introdus în celula electrolitică ce conţinea apă uzată, unde distanţa dintre plăci a fost de 4 m, tensiunea între cei doi poli a fost de 8~12 V, densitatea curentului electric a fost de 5~7 mA/cm^2, valoarea iniţială a pH-ului soluţiei de electroliţi a fost de 6,5, iar temperatura a fost de 25°C. Secvenţa de operare, prezentată în Figura 1, a fost următoarea: 1) s-a amestecat amidon solubil cu clorură de sodiu într-un vas până la omogenizare şi adsorbţie reciprocă [5]; 2) amestecul s-a turnat în apele uzate din celula electrolitică folosind o pompă peristaltică; 3) soluţia obţinută a trecut prin celula electrolitică sub câmp electric; 4) s-a folosit un rezervor pentru stocarea efluenţilor, menţinându-se timp de 4 ore; 5) s-a preluat soluţia de supernatant pentru analiză şi apoi s-a calculat gradul de eliminare a produselor hidrolizate ale proteinelor.

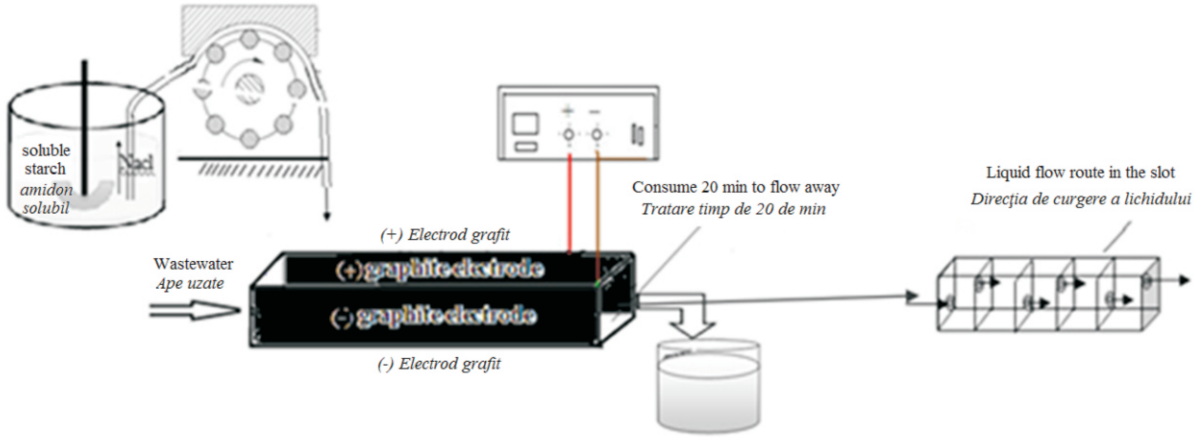


Figure 1. The processing of treatment of effluents
Figura 1. Procesul de tratare a efluenţilor

For the experiment, the protein degradation product content (x_1 g/L), soluble starch content (x_2 g/L), chloride ion concentration (x_3 g/L) and electrolytic time (x_4/min) were selected as the four effect factors. The secondary general rotation experimental design was used to obtain optimal conditions which have a high removal rate of protein degradation products. The secondary general rotation experimental design is shown in Table 1.

Pentru experiment s-au selectat ca parametri conţinutul de produse de degradare ale proteinelor (x_1 g/l), conţinutul de amidon solubil (x_2 g/l), concentraţia de ioni de clorură (x_3 g/l) şi timpul de electroliză (x_4/min). S-a utilizat designul experimental rotabil cu patru variabile pentru a obţine condiţiile optime pentru un grad ridicat de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor. Designul experimental rotabil este prezentat în Tabelul 1.

Table 1: Result of quadratic general rotary unitized designed experiments
Tabelul 1: Rezultatele experimentelor rotabile cu patru variabile

Experiment *Experiment*	x_1/(g/L)	x_2/(g/L)	x_3/(g/L)	x_4/min	Removal rate /percent *Grad de eliminare/procent*
1	1	2	2	10	2.560
2	1	2	2	30	3.060
3	1	2	4	10	5.700
4	1	2	4	30	6.300
5	1	4	2	10	3.540
6	1	4	2	30	4.940
7	1	4	4	10	6.220
8	1	4	4	30	8.780
9	2	2	2	10	21.00
10	2	2	2	30	23.10
11	2	2	4	10	24.50
12	2	2	4	30	26.80
13	2	4	2	10	24.00
14	2	4	2	30	25.40
15	2	4	4	10	23.00
16	2	4	4	30	28.50
17	0.5	3	3	20	6.570
18	2.5	3	3	20	33.12
19	1.5	1	3	20	10.12
20	1.5	5	3	20	17.66
21	1.5	3	1	20	13.34
22	1.5	3	5	20	16.74
23	1.5	3	3	5	15.20
24	1.5	3	3	40	17.23
25	1.5	3	3	20	16.22
26	1.5	3	3	20	16.43
27	1.5	3	3	20	15.87
28	1.5	3	3	20	15.46
29	1.5	3	3	20	16.43
30	1.5	3	3	20	16.50
31	1.5	3	3	20	16.04

According to the following quadratic polynomial regression model equation (1), the DPS statistical software was used to analyze experiment data as Table 1 showed.

Pe baza ecuaţiei polinomiale de ordinul 2 (1) de mai jos, s-a utilizat software-ul statistic DPS pentru a analiza datele experimentale ilustrate în Tabelul 1.

$$\hat{y} = b_0 + \sum_{i=1}^{4} b_i x_i + \sum_{i=1}^{i \prec j} b_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^{4} b_i x_i^2 \quad (1)$$

The protein removal rate (y) was calculated as the regression equation (2) showed, among the project P>0.05 was eliminated, respectively.

Gradul de eliminare a proteinei (y) a fost calculat cu ajutorul ecuaţiei de regresie (2) de mai jos, eliminându-se între timp factorul P>0,05.

$$y = -24.08979+8.77452\, x_1+6.10726\, x_2+5.07143\, x_3+2.83627\, x_1^2-0.77968\, x_2^2-0.49218\, x_3^2-0.00433\, x_4^2+0.07800\, x_1x_4 \quad (2)$$

The equation can predict the protein degradation products removal rates under these setting conditions, whether the single factor test or interactive effects of factors to protein removal rates. Using the DPS statistical software the optimal conditions could be obtained, namely 2.5 g/L protein degradation products, 5 g/L starch content, 5 g/L chlorine ion and the electrolysis time was 20 min. Under these conditions the best removal rate of protein degradation products achieved was 36.17%.

Ecuaţia poate prezice gradul de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor în aceste condiţii, utilizând fie testul unifactorial, fie analiza efectelor interactive ale factorilor care influenţează gradul de eliminare ale proteinelor. Utilizând softul statistic DPS, s-au obţinut condiţiile optime, şi anume: conţinut de 2,5 g/l produse de degradare ale proteinelor, 5 g/l conţinut de amidon, 5 g/l ioni de clorură şi timpul de electroliză de 20 de minute. În aceste condiţii, s-a obţinut cel mai bun grad de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor, de 36,17%.

Single Factor Analysis

According to the regression equation, one of the factors was selected (x) and its level value was changed while values of other factors were set to zero, to get a graph that shows the effect of a single factor on the removal rate of protein degradation products.

Figure 2 showed the removal rate curves of single factors. Respectively, as for the relationship of protein degradation products removal rate and electrolysis time, when electrolysis time (x_4) ranged from 5~20 min, the protein degradation products removal rate (y) was increased with the time increasing. Once the time exceeded 20 min, the removal rates gradually decreased. Maybe the reason is that with the increased number of activated starch, the efficiency of flocculation reaction where composites combined with protein degradation products was also increased, but with the prolonged time, lots of small molecule

Analiza unifactorială

Conform ecuaţiei de regresie, s-a ales un factor (x), şi s-a modificat valoarea acestuia în timp ce valorile celorlalţi factori s-au stabilit la zero, ceea ce a permis obţinerea unui grafic care arată modul în care un singur factor poate influenţa gradul de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor.

Figura 2 arată curbele gradului de eliminare pentru un factor unic. În ceea ce priveşte relaţia dintre gradul de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor şi timpul de electroliză, când timpul de electroliză (x_4) a variat între 5~20 min, gradul de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor (y) a crescut odată cu prelungirea timpului. Odată ce timpul a depăşit 20 min, gradul de eliminare a scăzut treptat. Motivul probabil este că, odată cu creşterea cantităţii de amidon activ, eficienţa reacţiei de floculare în care compozitele s-au combinat cu produsele de degradare ale proteinelor a crescut, dar la prelungirea timpului, au apărut multe

oxidative degradation products appeared and then led to the decentralization of flocculation mixture products and eventually to gradual solubilisation.

produse de degradare oxidativă cu molecule mici, iar produsele amestecului rezultat prin floculare s-au dezintegrat şi în cele din urmă s-au dizolvat treptat.

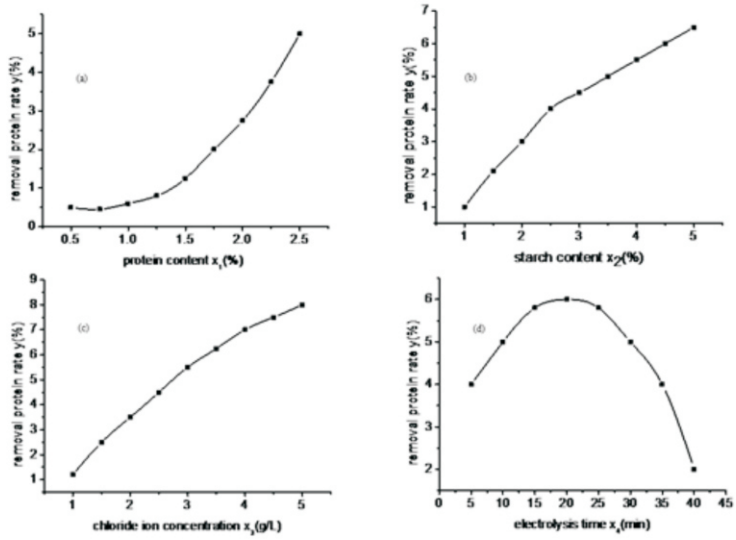


Figure 2. Single factor analysis to removal rate
Figura 2. Analiza unifactorială a gradului de eliminare

Interaction Effect Analysis

The x_iy_j factor reflected the interactive effects in regression equation (1). Figure 3 shows the surface plots calculated with DPS software in which the level values of two factors were changed and the values of the other two factors were set to zero level.

Figure 3a showed that the content of starch had a big influence on the removal rate of protein degradation products. When the content of starch and protein degradation products concentration increased, the removal rate of protein degradation products also increased, indicating that the starch content was a prominent influence factor for the removal rate of protein degradation products. Figure 3b showed that when the chloride ion concentration increased, the removal rate also increased. Figure 3c showed that the removal rate of protein degradation products was increased with the electrochemical oxidation time increasing, which ranged from zero to twenty minutes, and then decreased with the time exceeding 20 min. This means that the best balance time that turned point between the flocculation reaction and electro-dissociation was 20 minutes. Figure 3d showed that the proper chloride ion concentration and high starch

Analiza efectelor interactive

Factorul x_iy_j reflectă efectele interactive în ecuaţia de regresie (1). Figura 3 prezintă graficele calculate cu software-ul DPS la care s-au modificat valorile a doi factori, iar valorile celorlalţi doi factori au fost setate la zero.

Din Figura 3a reiese influenţa mare a conţinutului de amidon asupra gradului de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor. Odată cu creşterea conţinutului de amidon şi a concentraţiei produselor de degradare ale proteinelor, a crescut şi gradul de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor, ceea ce a indicat influenţa semnificativă a conţinutului de amidon asupra eliminării produselor de degradare ale proteinelor. Figura 3b arată creşterea gradului de eliminare odată cu creşterea concentraţiei de ioni de clorură. Figura 3c arată că gradul de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor a crescut odată cu creşterea timpului de oxidare electrochimică, care variază de la zero la douăzeci de minute, iar apoi a scăzut la prelungirea timpului peste 20 de minute. Aceasta înseamnă că cel mai bun timp de echilibru, la limita dintre reacţia de floculare şi electro-disociere a fost de 20 de minute. Figura 3d arată că o concentraţie

concentration would result in a higher removal rate. For this reason the electrochemical oxidation could promote the starch flocculating activity; Figure 3e, 3f showed that there were some normal balances between electrochemical reaction time and chloride ion concentration along with the protein degradation products concentration changed.

adecvată de ioni de clorură şi o concentraţie ridicată de amidon conduc la un grad de eliminare mai mare. Din acest motiv, oxidarea electrochimică facilitează activitatea de floculare a amidonului; Figura 3e şi f arată că a existat un echilibru normal între timpul de reacţie electrochimică şi concentraţia de ioni de clorură, odată cu modificarea concentraţiei de produse de degradare ale proteinelor.

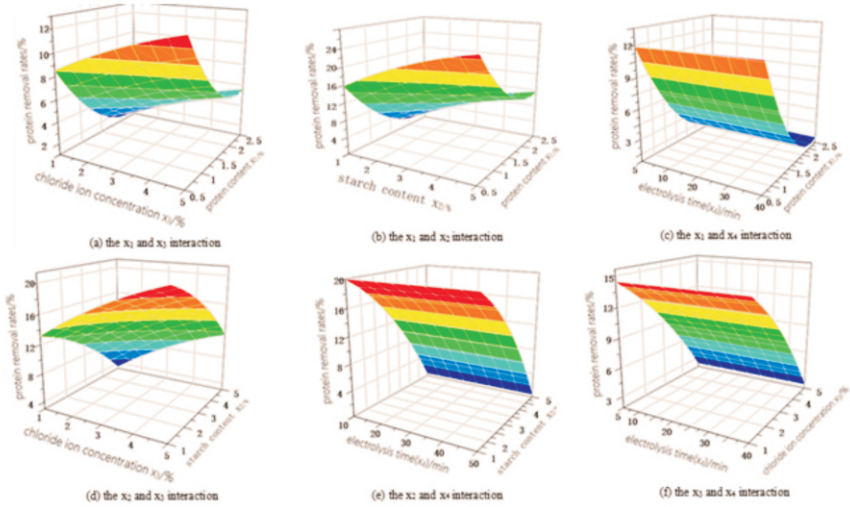


Figure 3. Analysis on interreactions of factors in protein removal
Figura 3. Analiza inter-reacţiilor factorilor pentru eliminarea proteinelor

The DPS software was used to process the regression equation to get the optimal conditions of the higher protein degradation products removal rate where the protein degradation products concentration was 2.5 g/L, starch content was 5.0 g/L, chloride ion concentration was 5.0 g/L and electrochemical oxidation time was 20 min. And under this condition, the removal rate achieved was 36.17%. In addition, through the experiment we can find that the higher the starch concentration, the higher the removal rates we can get.

Ecuaţia de regresie s-a calculat cu ajutorul software-ului DPS în vederea obţinerii condiţiilor optime pentru un grad mai mare de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor, în care concentraţia produselor de degradare ale proteinelor a fost de 2,5 g/l, conţinutul de amidon a fost de 5,0 g/l, concentraţia ionilor de clorură a fost de 5,0 g/l şi timpul de oxidare electrochimică a fost de 20 de minute. În aceste condiţii, s-a obţinut un grad de eliminare de 36,17%. În plus, prin experimentare, s-a constatat că gradul de eliminare este direct proporţional cu concentraţia de amidon.

RESULTS AND DISCUSSION

Analysis of Electrochemical Processing Starch

The soluble starch content was 5.0 g/L, chloride ion concentration was 5.0 g/L and electrochemical oxidation time was 20 min. The $NH_2OH{\cdot}HCl$ method was used to measure the carbonyl content of oxidation starch and via the modified calcium acetate

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Analiza amidonului prelucrat pe cale electrochimică

Conţinutul de amidon solubil a fost de 5,0 g/l, concentraţia ionilor de clorură a fost de 5,0 g/l şi timpul de oxidare electrochimică a fost de 20 de minute. S-a utilizat formula $NH_2OH{\cdot}HCl$ pentru a măsura numărul de grupări carbonil din amidonul oxidat şi metoda cu

method of standard USP (1995) to measure carboxyl content. These results were compared to original starch, showed in Table 2. From Table 2 we can find that the content of aldehyde and carboxyl groups were increased after electrochemical oxidation reaction.

acetat de calciu modificat din standardul USP (1995), pentru a măsura numărul de grupări carboxil. Aceste rezultate au fost comparate cu amidonul iniţial, după cum arată Tabelul 2. Din Tabelul 2 se poate constata că numărul de grupări aldehidice şi carboxil a crescut după reacţia de oxidare electrochimică.

Table 2: The content of aldehyde and carboxyl group
Tabelul 2: Numărul de grupări aldehidice şi carboxil

Character of starch *Tip de amidon*	*w*(HC=O)/%	*w*(COO)/%
Original starch *Amidon iniţial*	0.80	1.40
Electrolytic starch *Amidon electrolitic*	3.67	26.2

Analysis of FTIR

Compared to original starch, the —C=O stretch vibration absorption spectra between 1748 cm^{-1} and 1750 cm^{-1} were obviously reinforced after electrochemical oxidation, which indicated that the electrochemical oxidation activated the starch and many carbonyl and carboxyl groups appeared [6-8]. Compared to pure protein, the flocculates of electrochemical oxidation starch and protein degradation products in which its absorption peak changed little at 3446 cm^{-1}, while the absorption peaks of —NH, —OH, —CN changed less and no new peaks appeared, as Figure 4 shows. So the main result of the flocculate reaction was the adsorption reaction between active starch and protein degradation products.

Analiza FTIR

În comparaţie cu amidonul iniţial, spectrele de absorbţie ale vibraţiei de întindere —C=O din regiunea 1748-1750 cm^{-1} au fost în mod evident consolidate după oxidarea electrochimică, ceea ce a indicat faptul că oxidarea electrochimică a activat amidonul şi au apărut mai multe grupări carbonil şi carboxil [6-8]. În comparaţie cu proteina pură, picul de absorbţie al amidonului oxidat electrochimic şi al produselor de degradare ale proteinelor s-a deplasat uşor la 3446 cm^{-1}, în timp ce picurile de absorbţie ale —NH, —OH, —CN s-au modificat mai puţin şi nu au apărut alte picuri noi, după cum arată Figura 4. Aşadar, reacţia de floculare a avut ca rezultat principal adsorbţia dintre amidonul activ şi produsele de degradare ale proteinelor.

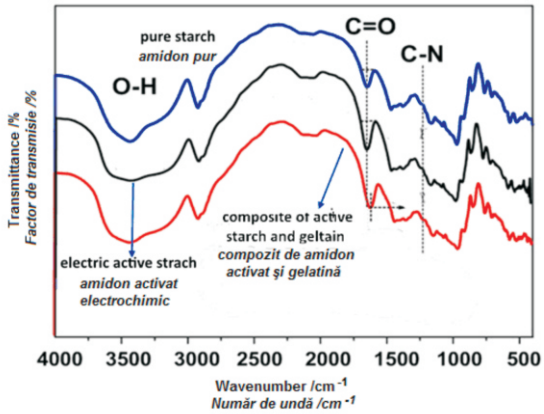


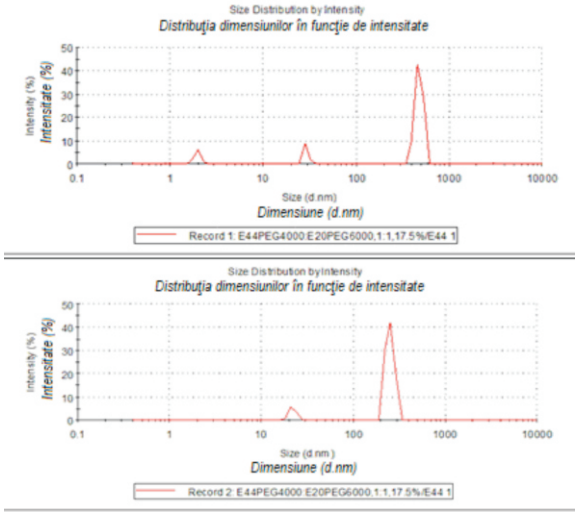
Figure 4. FTIR spectra of pure starch, electronic-activated starch and composite of electronic-activated starch and gelatin
Figura 4. Spectrele FTIR ale amidonului pur, amidonului activat electrochimic şi al compozitului de amidon activat electrochimic şi gelatină

Analysis of Nano Size and Potential

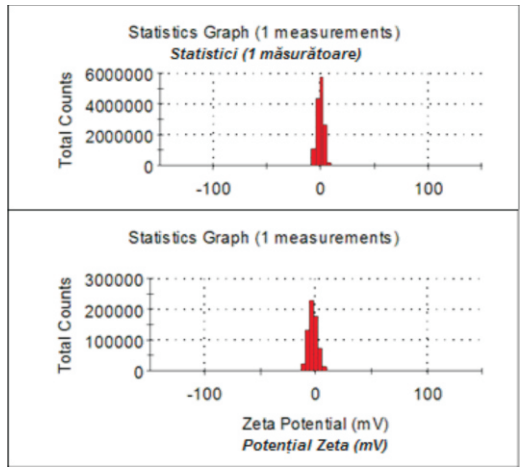
Figure 5a showed that the sizes of electrochemical oxidation starch particles were all beyond 10 nm, especially the sizes all ranged from 10 to 100 nm and changed less when the sizes exceeded 100 nm, compared to the original starch. Maybe the starch outer sphere was stripped by electrochemical treatment, whilst the Zeta potential of oxidation starch particles increased with the increasing content of carbonyl and carboxyl groups, as the Figure 5b showed.

Analiza dimensiunii nanoparticulelor şi a potenţialului Zeta

Figura 5a arată că dimensiunea particulelor de amidon oxidat electrochimic a depăşit 10 nm, dimensiunile tuturor particulelor s-au situat în intervalul 10-100 nm şi s-au modificat mai puţin atunci când dimensiunile au depăşit 100 nm, comparativ cu amidonul iniţial. Este posibil ca sfera exterioară a amidonului să fi fost îndepărtată prin tratamentul electrochimic, în timp ce potenţialul Zeta al particulelor de amidon oxidat a crescut odată cu creşterea numărului de grupări carbonil şi carboxil, după cum arată Figura 5b.



(a)



(b)

Figure 5. Particle size distribution (a) and Zeta distribution (b) of pure starch (U) and electronic activated starch (D)
Figura 5. Distribuţia dimensiunilor particulelor (a) şi a potenţialului Zeta (b) ale amidonului pur (U) şi ale amidonului activat electrochimic (D)

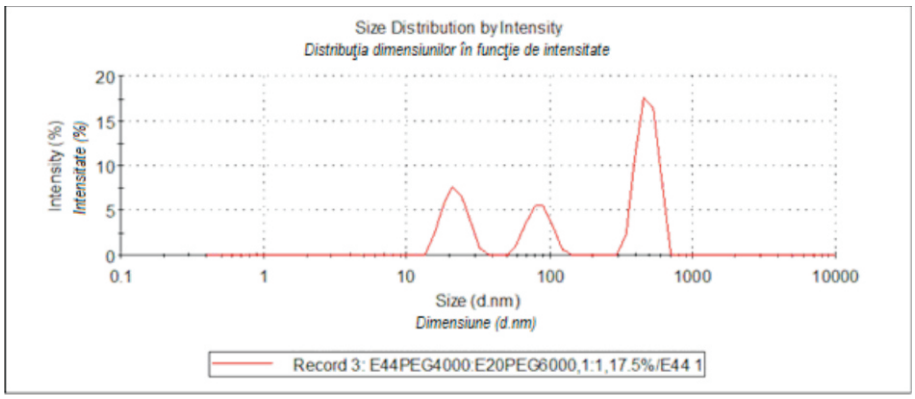


Figure 6. Size distribution of composite of electronic-activated starch and gelatin solution
Figura 6. Distribuţia dimensiunilor particulelor compozitului de amidon activat electrochimic şi soluţie de gelatină

The size of composite particles changed obviously after the flocculate reaction, they were all between 10~100 nm, especially there were two main wider distributions and one new wider distribution in 100 nm, they all have a wider distribution than that of original starch, respectively, as shown in Figure 6.

Dimensiunea particulelor compozitului s-a modificat în mod evident după reacţia de floculare, toate acestea situându-se în gama 10~100 nm. Există două distribuţii principale mai largi şi o nouă distribuţie mai largă, la 100 nm, toate având o distribuţie mai largă decât cea a amidonului iniţial, aşa cum arată Figura 6.

Analysis of AFM

Figure 7a showed the micro-structure of original starch, which included plane figure (left), three-dimensional topography simulation diagram (right) and particle size distribution (down). There were two kinds of starch particles, one of the starch was chain starch whose diameter was approximately 50 nm and length was 200 nm [9]; another one was micro starch granules whose sizes were all below 50 nm. According to the distribution of sizes, the main domains were all around 50 nm following the same trends as the nanoparticle size or Zeta potential showed.

Analiza AFM

Figura 7a ilustrează micro-structura amidonului iniţial, care cuprinde diagrama plană (stânga), diagrama tridimensională a simulării topografice (dreapta) şi distribuţia dimensiunii particulelor (jos). Au existat două tipuri de particule de amidon, unul dintre acestea a fost amidonul de tip lanţ, cu diametrul de aproximativ 50 nm şi lungimea de 200 nm [9], iar celălalt a fost amidon sub formă de micro granule cu dimensiuni sub 50 nm. În funcţie de distribuţia dimensiunilor, principalele domenii au fost în jur de 50 nm, urmând aceleaşi tendinţe prezentate de mărimea nanoparticulelor sau potenţialul Zeta.

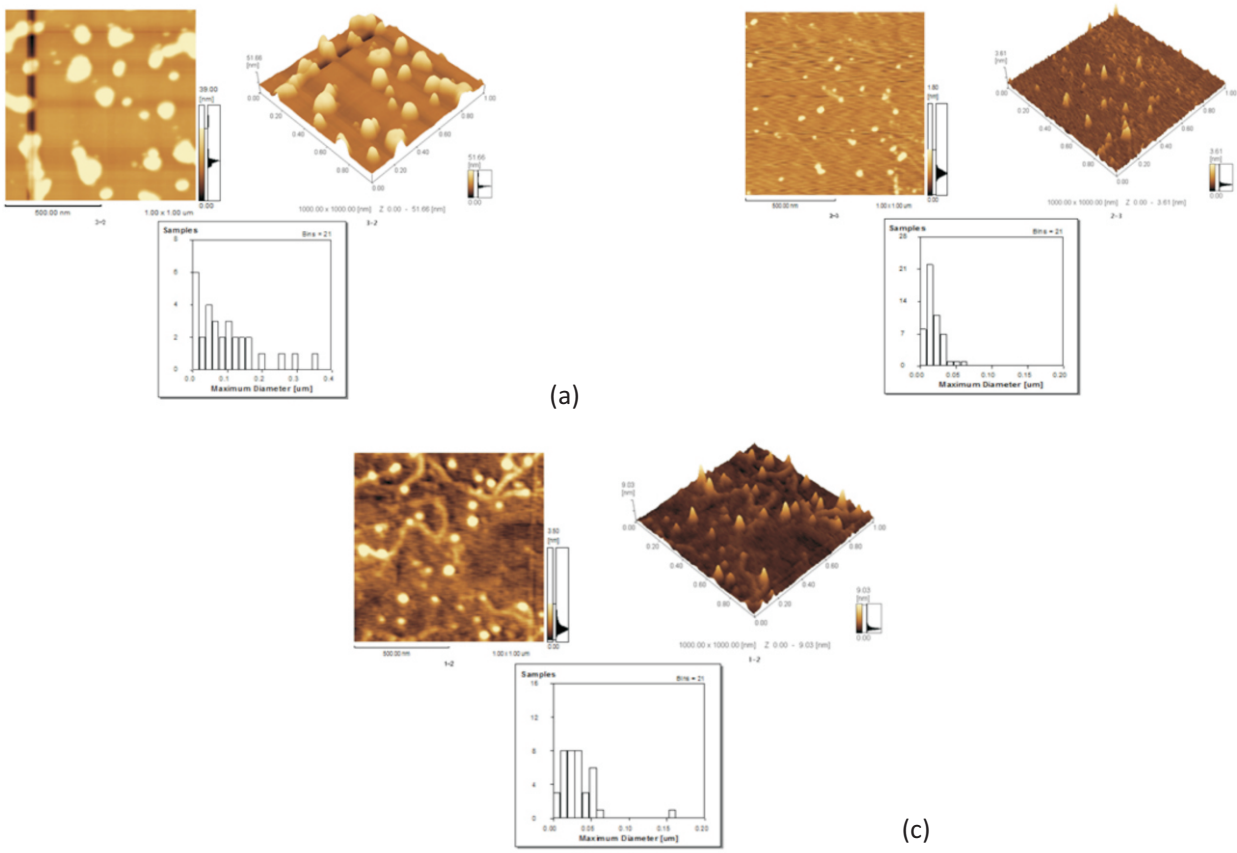


Figure 7. Schematic diagram of mechanism of AFM
Figura 7. Diagramă schematică a mecanismului AFM

Similarly, Figure 7b is the micro-structure of electrochemical oxidation starch, including the plane figure (left), three-dimensional topography simulation diagram (right) and particle size distribution (down). The AFM graph showed the obvious decrease of component sizes of the starch particles, all of which were below 100 nm. Under the same concentration, the distance between the electrochemical oxidation starch nanoparticles was further than that of pure starch, which means the dispersion of nanoparticles was more uniform. The AFM analysis results are also similar to the nano size analysis showed above.

Figure 7c is the micro-structure of the flocculation particles including electrochemical oxidation starch and protein degradation products. There were two kinds of morphology of structures, one was rounded starch nanoparticles and another was unsharp aggregate composites which included oxidation starch and protein degradation products. It can be considered that the structure of flocculation particles was composed of starch on the inside and surrounded by protein degradation products on the outside. It also showed the composite features of the flocculation particles in aqueous solution as described above.

A Model for the Electrochemical Flocculate

The mixtures contain soluble starch and sodium chloride which in the electric field turned into oxidation starch leading to many active nanoparticles, especially the increased contents of hydroxyl and carboxyl groups in starch molecules, respectively. According to the hydrogen bond between carboxyl or aldehyde group in the oxidation starch and protein compounds, it would lead to flocculate or aggregate reaction and formed the matters where the interior is starch micro-sphere particles and the external is the protein degradation products, as Figure 8 showed. Starch nanoparticles do not dissolve or appear to retrograde in water and make the flocculation exist steady in water.

În mod similar, Figura 7b reprezintă micro-structura amidonului oxidat electrochimic, care cuprinde diagrama plană (stânga), diagrama tridimensională a simulării topografice (dreapta) şi distribuţia dimensiunii particulelor (jos). Graficul AFM arată scăderea evidentă, sub 100 nm, a dimensiunilor particulelor de amidon. În aceeaşi concentraţie, distanţa dintre nanoparticulele de amidon oxidat electrochimic a fost mai îndepărtată în comparaţie cu amidonul pur, ceea ce înseamnă că dispersia nanoparticulelor a fost mai uniformă. Rezultatele analizei AFM sunt asemănătoare cu rezultatele analizei dimensiunilor nano prezentate mai sus.

Figura 7c ilustrează micro-structura particulelor de floculare compuse din amidon oxidat electrochimic şi produse de degradare ale proteinelor. Au existat două tipuri de morfologie a structurilor, nanoparticule rotunjite de amidon şi compozite agregate cu contururi nedefinite, compuse din amidon oxidat şi produse de degradare ale proteinelor. Se poate considera că structura particulelor de floculare a fost compusă din amidon la interior, înconjurat de produse de degradare ale proteinelor la exterior. De asemenea, arată trăsăturile compuse ale particulelor de floculare în soluţie apoasă, aşa cum este descris mai sus.

Model de floculare electrochimică

Amestecurile conţin amidon solubil şi clorură de sodiu, care în câmpul electric s-au transformat în amidon oxidat, ducând la apariţia multor nanoparticule active, în special datorită conţinutului ridicat de grupări hidroxil şi carboxil din moleculele de amidon. Pe baza legăturii de hidrogen dintre gruparea carboxil sau aldehidică din amidonul oxidat şi compozitele de proteine, are loc reacţia de floculare sau agregare şi se formează materiile care au la interior micro-sfere din amidon şi produse de degradare ale proteinelor la exterior, după cum arată Figura 8. Nanoparticulele de amidon nu se dizolvă sau par să retrogradeze în apă, stabilizând flocularea.

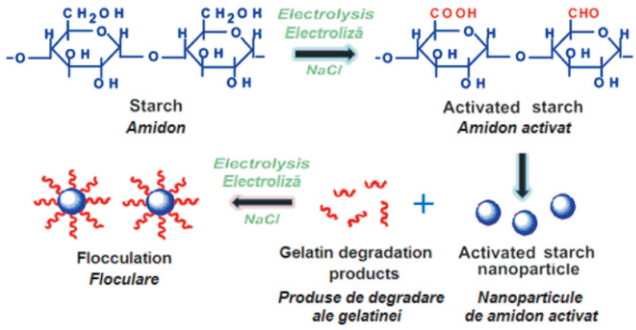


Figure 8. Schematic diagram of mechanism of electronic activated starch based treatment of protein solution
Figura 8. Diagramă schematică a mecanismului de tratare a soluţiei de proteine pe baza activării electrochimice a amidonului

Electric Flocculation Energy Consumption

The energy consumption of electric flocculation is a necessary factor to consider. In order to evaluate the method of electric energy consumption, we can use the following equation to calculate:

Consumul de energie la flocularea în câmp electric

Consumul de energie la flocularea în câmp electric este un factor demn de luat în considerare. Pentru a evalua metoda consumului de energie electrică, putem efectua calculele utilizând următoarea ecuaţie:

$$W = 60 \times UIt / 3600000 \quad (3)$$

where W (kW·h) is energy consumption, U (V) is the voltage between the plates, I (A) is current intensity and t (min) is electrolysis time. The relation between the protein degradation products removal rate and energy consumption was showed in Figure 9.

unde W (kW·h) este consumul de energie, U (V) este tensiunea dintre plăci, I (A) este intensitatea curentului şi t (min) este timpul de electroliză. Relaţia dintre gradul de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor şi consumul de energie este prezentată în Figura 9.

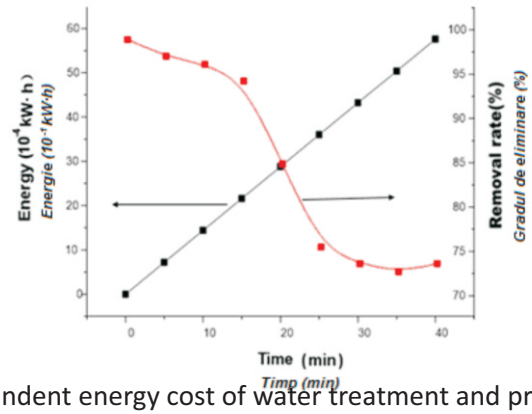


Figure 9. Time dependent energy cost of water treatment and protein content in water
Figura 9. Consumul de energie al tratamentului apei în funcţie de timp şi conţinutul de proteine în apă

According to the equation (3), when the content of protein degradation products was removed from 0.879 mg/mL to 0.682 mg/mL, the

Conform ecuaţiei (3), atunci când s-a eliminat un conţinut de produse de degradare ale proteinelor de la 0,879 mg/ml până la 0,682 mg/ml, consumul de

energy consumption was 1.6×10^{-4} kW·h. Figure 9 showed that the energy consumption is linear increasing with the electric treatment time going. The less energy consumption and the biggest removal rate need to be considered.

energie a fost de 1.6×10^{-4} kW·h. Figura 9 ilustrează liniaritatea consumului de energie, crescând odată cu prelungirea timpului de tratament electric. Trebuie să se ia în considerare cel mai mare grad de eliminare cu cel mai mic consum de energie.

CONCLUSIONS

The phenomenon of sodium chloride adsorbed soluble starch characteristic of the flocculation reaction was used, where oxidized actively starch was combined with proteins and their degradation products in electrolytic cell, which have higher efficiency to remove protein components in industry effluents. Based on the experiment results and using the DPS statistical software the optimal conditions can be obtained, namely 2.5 g/L protein degradation products, 5 g/L starch content, 5 g/L chlorine ion concentration and 20 min electrolysis time; the best removal rate of protein degradation products achieved was 36.17%, respectively. Spectra and morphological analysis showed that the electrical flocculation substances were mainly composed of oxidation starch and protein degradation products composite. In addition to the increased composite particles size, the reaction was confirmed by Nano particle, zeta potential and AFM analyses.

Acknowledgements

The authors are grateful for the experiment equipment provided by the Key Laboratory of Leather Chemistry and Engineering of Ministry of Education, and are also grateful to our laboratory staff.

CONCLUZII

S-a utilizat fenomenul adsorbţiei clorurii de sodiu şi amidonului solubil caracteristic reacţiei de floculare, în care s-a combinat amidonul activat prin oxidare cu proteinele şi produsele de degradare ale acestora în celulă electrolitică, cu o eficienţă mai mare în eliminarea componentelor proteice din efluenţii industriali. Pe baza rezultatelor experimentale şi utilizării programului statistic DPS s-au obţinut condiţiile optime, şi anume 2,5 g/l produse de degradare ale proteinelor, 5 g/l conţinut de amidon, 5 g/l concentraţia de ioni de clorură şi 20 min timp de electroliză, iar cel mai bun grad de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor obţinut a fost de 36,17%. Analiza morfologică şi spectrală a arătat că substanţele rezultate în urma floculării în câmp electric au fost compuse în principal din amidon oxidat şi produse de degradare ale proteinelor. Pe lângă dimensiunea mare a particulelor compozitului, reacţia a fost confirmată prin analiza nanoparticulelor, determinarea potenţialului Zeta şi analiza AFM.

Mulţumiri

Autorii mulţumesc Laboratorului de Chimie şi Inginerie a Pielii din cadrul Ministerului Educaţiei pentru furnizarea echipamentelor de experimentare, precum şi personalului de laborator.

REFERENCES

1. He, Q., Yao, K., Sun, D. *et al.*, Biodegradability of tannin-containing effluents from leather industry, *Biodegradation*, **2007**, 18, 465-472.
2. Wang, K., Li, W., Gong, X., Biological pretreatment of tannery effluents using a full-scale hydrolysis acidification system, *Int Biodeter Biodegr*, **2014**, 95, 41-45.
3. Gomes, C.S., Piccin, J.S., Gutterres, M., Optimizing adsorption parameters in tannery-dye-containing effluent treatment with leather shaving waste, *Process Saf Environ Prot*, **2016**, 99, 98-106.

4. Karthikeyan, S., Boopathy, R., Sekaran, G., *In situ* generation of hydroxyl radical by cobalt oxide supported porous carbon enhance removal of refractory organics in tannery dyeing effluents, *J Colloid Interf Sci*, **2015**, 448, 163-174.
5. Baker, L.A., Rayas-Duarte, P., Freeze-Thaw Stability of Amaranth Starch and the Effects of Salt and Sugars, *Cereal Chem*, **1998**, 75, 301-307.
6. Hernandez-Jaimes, C., Lobato-Calleros, C., Sosa, E. *et al.*, Electrochemical characterization of gelatinized starch dispersions: Voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy on platinum surface, *Carbohyd Polym*, **2015**, 124, 8-16.
7. Shaarawy, H.H., El-Rafie, S.M., El-Ghaffar, A.M.A. *et al.*, Electrocatalytic oxidation of rice starch using mixed oxidant generated via titanium/rhodium thermally activated modified electrode: Part (I), *Carbohyd Polym*, **2009**, 75, 208-213.
8. Kumar, M., Tiwari, T., Srivastava, N., Electrical transport behaviour of bio-polymer electrolyte system: Potato starch + ammonium iodide, *Carbohyd Polym*, **2012**, 88, 54-60.
9. McIntire, T.M., Brant, D.A., Imaging of carrageenan macrocycles and amylose using noncontact atomic force microscopy, *Int J Biol Macromol*, **1999**, 26, 303-310.

Article received/Data primirii articolului: 27.03.2016
Accepted/Acceptat la data: 27.06.2016

DETERMINATION OF HYDROXYPROLINE IN COLLAGEN BIOMATERIALS FOR MEDICAL USE AND VALIDATION OF METHOD

DETERMINAREA HIDROXIPROLINEI DIN BIOMATERIALELE COLAGENICE PENTRU UZ MEDICAL SI VALIDAREA METODEI

Gabriela MACOVESCU*, Ciprian CHELARU, Mădălina Georgiana ALBU KAYA, Luminiţa ALBU

INCDTP - Division: Leather and Footwear Research Institute, 93 Ion Minulescu, 031215, Bucharest, Romania, icpi@icpi.ro

DETERMINATION OF HYDROXYPROLINE IN COLLAGEN BIOMATERIALS FOR MEDICAL USE AND VALIDATION OF METHOD

ABSTRACT. The paper presents a method for determining hydroxyproline in collagen biomaterials for medical use produced in The Collagen Department of INCDTP – Division ICPI and its validation. The method has two stages: the first one consists in hydrolysis of proteins in the sample of protein product to the form of amino acids, among which hydroxyproline. The second stage refers to selective highlighting of hydroxyproline using a specific colour reaction and quantitative assessment against a reference standard with known concentration. The method was validated to establish performance parameter and to check compliance with the set goal.
KEY WORDS: biomaterials, hydroxyproline, validation of method, collagen

DETERMINAREA HIDROXIPROLINEI DIN BIOMATERIALELE COLAGENICE PENTRU UZ MEDICAL SI VALIDAREA METODEI

REZUMAT. Lucrarea prezinta o metoda de determinare a hidroxiprolinei din biomaterialele colagenice pentru uz medical produse în Departamentul Colagen al INCDTP – Sucursala ICPI si validarea ei. Metoda are doua etape: prima consta în hidroliza proteinelor din proba de produs proteic pâna la stadiul de aminoacizi, printre care si hidroxiprolina. A doua etapa se refera la evidentierea selectiva a hidroxiprolinei printr-o reactie specifica de culoare si evaluarea cantitativa fata de un standard de referinta cu concentratie cunoscuta. Metoda a fost validata pentru a se stabili parametrii de performanta si pentru verificarea conformarii cu scopul propus.
CUVINTE CHEIE: biomateriale, hidroxiprolina, validare metoda, colagen

LA DÉTERMINATION DE L'HYDROXYPROLINE DANS LES BIOMATÉRIAUX DE COLLAGÈNE POUR UTILISATION MÉDICALE ET LA VALIDATION DE LA MÉTHODE

RÉSUMÉ. Cet article présente une méthode de détermination de l'hydroxyproline dans les biomatériaux de collagène pour utilisation médicale produits dans le Département de Collagène de INCDTP - Division ICPI et la validation de cette méthode. La méthode comporte deux étapes: la première consiste en l'hydrolyse des protéines dans l'échantillon de produit protéique jusqu'à l'étape d'acides aminés, y compris l'hydroxyproline. La deuxième étape se réfère à la mise en évidence sélective de l'hydroxyproline par une réaction de couleur spécifique et à l'évaluation quantitative contre un étalon de référence de concentration connue. La méthode a été validée pour déterminer les paramètres de performance et pour vérifier la conformité avec le but fixé.
MOTS-CLÉS: biomatériaux, hydroxyproline, validation de la méthode, collagène

INTRODUCTION

The quality of products for medical use is a particularly complex concept because, unlike that of other industrial products, it has a much wider scope and much deeper effects. If for most industrial products quality is a well-defined property or set of physical-chemical properties, in the case of products for medical use, quality encompasses physical-chemical, biochemical, microbiological and toxicological characteristics. By their nature, these have profound implications on life, as they are an essential factor of metabolic processes and balance of the human body.

INTRODUCERE

Calitatea produselor pentru uz medical este un concept deosebit de complex deoarece, spre deosebire de cea a altor produse industriale, ea are un cuprins mult mai larg şi efecte mult mai profunde. Dacă pentru majoritatea produselor industriale, calitatea se caracterizează printr-o însuşire sau grup de însuşiri fizice şi chimice bine definite, în cazul produselor pentru uz medical calitatea înglobează caracteristici fizico-chimice, biochimice, microbiologice şi toxicologice. Acestea, prin calitatea lor, au implicaţii profunde asupra vieţii deoarece reprezintă un factor esenţial al proceselor metabolice şi al echilibrului organismului.

* *Correspondence to: Gabriela MACOVESCU, INCDTP - Division: Leather and Footwear Research Institute, 93 Ion Minulescu, 031215, Bucharest, Romania, icpi@icpi.ro*

Medical product manufacturers are responsible for the health of consumers, participating in one of the most effective health protection and promotion methods. As a result, products must fulfill three major requirements: i) therapeutic qualities; ii) hygiene qualities; iii) sensory qualities.

These requirements impose constant control by using complex and advanced methods that allow reliable and reproducible data.

Promoting such products requires the existence of relevant knowledge regarding the presence of biologically active compounds in the range of raw materials used and the assessment of their content in terms of functional components.

Due to its excellent biocompatibility and biodegradability, well-defined structure, biological characteristics and method of interaction with the body, collagen is one of the most frequently used biomaterials for medical treatment. Extracted in the form of aqueous solution or gel, type I fibrillar collagen may be modelled into various products: medical devices, artificial implants, drug release systems, creams and scaffolds for tissue regeneration, with important role in medicine [1-6].

Collagen itself is considered an active drug/ principle, used – in various forms – as hemostatic and dressing in the treatment of various types of wounds.

Collagen is the basis of intercellular matter of conjunctive tissue found in bones, teeth, cartilage, tendons, ligaments, skin, blood vessels and has an important role in a series of physiological processes, provides resistance and structural integrity to the body. An increase in catabolism and collagen regeneration are important information in the pathogenesis of many diseases.

Collagen, a natural protein, cannot heal infected tissue by itself, as bacteria may use it as a substrate. In severe wound infections, systemic drug administration may lead to insufficient drug concentration at the infected site or to side effects associated to the drug and/or systemic toxicity. This deficiency found its successful resolution in local drug applications, by developing drug release systems using collagen as substrate and an antibiotic/antiseptic as drug for infection control [2, 4, 7, 8].

Realizând produse pentru uz medical, producătorii sunt responsabili de starea de sănătate a consumatorilor, participând la una dintre cele mai eficiente căi de ocrotire şi promovare a sănătăţii. Ca urmare, produsele trebuie să fie sub imperiul a trei mari cerinţe: i) să posede calităţi terapeutice; ii) să posede calităţi igienice; iii) să posede calităţi senzoriale.

Aceste cerinţe impun un permanent control prin utilizarea unor metode complexe şi performante care să permită obţinerea unor date certe şi reproductibile.

Promovarea unor astfel de produse necesită existenţa unor cunoştinţe relevante privind prezenţa unor compuşi biologic activi în diversele materii prime utilizate şi evaluarea conţinutului lor în componentele care le conferă funcţionalitate.

Datorită biocompatibilităţii şi biodegradabilităţii excelente, a structurii bine definite, a caracteristicilor biologice şi a modului în care interacţionează cu organismul, colagenul reprezintă unul dintre cele mai utilizate biomateriale utilizate în tratamente medicale. Extras sub formă de soluţie apoasă sau gel, colagenul fibrilar tip I poate fi modelat în diferite forme: dispozitive medicale, implanturi artificiale, suporturi pentru cedarea medicamentelor, creme şi schelete pentru regenerare tisulară, cu un rol important în medicină [1-6].

Colagenul însuşi este considerat medicament/ principiu activ, fiind utilizat – sub diferite forme – ca hemostatic şi pansament în tratamentul diferitelor tipuri de leziuni.

Colagenul este baza materiei intercelulare a ţesutului conjunctiv prezent în oase, dinţi, cartilaje, tendoane, ligamente, tegument, vase de sânge şi are un rol important într-o serie de procese fiziologice, conferă organismului rezistenţă şi integritate structurală. O creştere a catabolismului şi regenerarea colagenului sunt informaţii importante în patogeneza multor boli.

Colagenul, fiind o proteină naturală, nu poate vindeca singură ţesutul infectat deoarece bacteriile îl pot utiliza ca substrat. În infecţiile severe ale rănilor, administrarea sistemică a medicamentelor poate conduce la o concentraţie insuficientă de medicament la locul infectat sau la efecte secundare asociate medicamentului şi/sau la toxicitate sistemică. Această deficienţă şi-a găsit rezolvarea cu succes în aplicaţiile locale ale medicamentelor, dezvoltându-se astfel sisteme de cedare care au ca suport colagenul şi ca medicament un antibiotic/antiseptic pentru controlul infecţiei [2, 4, 7, 8].

The presence of collagen in the body is essential for healing minor skin injuries, as well as wounds in different tissues, for repairing cartilage, ligaments and bones, including even dental degeneration.

A natural polymer, collagen is made up of 20 amino acids, arranged in characteristic sequences that form a highly complex conformational structure, organized into four levels, called primary, secondary, tertiary and quaternary structures.

Collagen differs from regular proteins by the fact the it includes a higher concentration of certain amino acids. Almost a third of collagen composition is glycine, the smallest amino acid, and another third is proline and hydroxyproline, the active form of proline, an amino acid specific to collagen.

The most recent data regarding collagen composition shows that hydroxyproline residues are present in the major phenotype of type I collagen in a ratio of approximately 11.3 wt%. The ratio of hydroxyprolyl residue in type II collagen from cartilage and in type IV collagen from basement membranes ranges from 12.9% and 14.3%, and is approximately 15.0% in type III collagen [9, 10].

Hydroxyproline is an amino acid irreversibly synthesized from post translational hydroxylation of proline by prolyl hydroxylase. As hydroxyproline was found in very few proteins, other than collagen, hydroxyproline determination was used as a marker to quantify collagen and/or gelatin levels (from partial collagen hydrolysis resulting in a mixture of proteins and peptides).

Hydroxyproline determination is used to identify certain diseases that involve breakdown of collagen. Increased values of hydroxyproline have been correlated to bone metastasis, prostate carcinoma or hepatic fibrosis. Hydroxyproline dosing is also used in the food industry in quality control of meat and meat products [11].

Several experimental hydroxyproline determination approaches were found in the literature differing depending the nature of the material to be tested.

Tissue subjected to analyses are first hydrolysed with acid to release hydroxyproline. This is generally performed using hydrochloric acid solution 6M or sulphuric acid 6M at temperatures from 110 to 130°C

Prezenţa colagenului în organism este esenţială pentru vindecarea rănilor uşoare ale pielii, dar şi a rănilor din diferite ţesuturi, pentru repararea cartilagiilor, ligamentelor şi oaselor, incluzând chiar şi degenerări dentare.

Polimer natural, colagenul este constituit din 20 de aminoacizi, aranjaţi în secvenţe caracteristice, ce formează o structură conformaţională foarte complexă, organizată pe patru nivele, numite structuri primară, secundară, terţiară şi cuaternară.

Colagenul diferă de proteinele obişnuite prin faptul că are în compoziţie o mai mare concentraţie de anumiţi aminoacizi. Aproape o treime din colagen este compusă din glicină, cel mai mic aminoacid şi o altă treime este formată din prolină şi hidroxiprolină, forma activă a prolinei, aminoacid specific colagenului.

Cele mai recente date privind compoziţia colagenului arată că reziduurile hidroxiprolinei sunt prezente în fenotipul major al colagenului tip I, în proporţie de aproximativ 11,3% în greutate. Ponderile reziduului hidroxiprolil din colagenul tip II din cartilaje şi colagenul tip IV din membranele bazale sunt cuprinse între 12,9% şi 14,3% şi sunt de aproximativ 15,0% în colagenul de tip III [9, 10].

Hidroxiprolina este un aminoacid care este sintetizat ireversibil din hidroxilarea post-translaţională a prolinei de către prolil hidroxilază. Deoarece hidroxiprolina a fost găsită în foarte puţine proteine, altele decât colagenul, măsurarea hidroxiprolinei a fost folosită ca un marker pentru a cuantifica nivelurile de colagen şi/sau gelatină (din hidroliza parţială a colagenului rezultând un amestec de proteine şi peptide).

Măsurarea hidroxiprolinei este utilizată pentru a identifica anumite boli care implică liza colagenului. Valori crescute ale hidroxiprolinei au fost corelate cu metastaze osoase, cu carcinom de prostată, sau cu fibroza hepatică. Dozarea hidroxiprolinei se utilizează şi în industria alimentară la controlul calitativ al cărnii şi al produselor din carne [11].

Pentru determinarea hidroxiprolinei, în literatura de specialitate au fost găsite mai multe abordări experimentale diferite în funcţie de natura materialului de testat.

Ţesuturile supuse analizelor sunt mai întâi hidrolizate cu acid pentru a se elibera hidroxiprolina. Acest lucru este în general realizat folosind soluţie de acid clorhidric 6M sau acid sulfuric 6M la temperaturi

for 10 to 24 hours, either in sealed tubes or in reflux condensers.

Other researchers used perchloric acid 72% at 100°C for 2-4 hours [12, 13] or sulphuric acid 3M at 105°C for 16 hours, as specified in ISO 3496: 1994 for determination of hydroxyproline in meat and meat products [11].

Free hydroxyproline is most conveniently quantified colorimetrically after oxidation to pyrrole, which is then reacted specifically with p-dimethylaminobenzaldehyde (Ehrlich's reagent) to produce an intense red-brown compound. Chloramine-T is now generally preferred as oxidant in pyrrole formation.

In the case of collagen-rich foodstuff, three methods are most used, but the most often used is the one proposed by the International Standard Organization in ISO 3496:1994 that was developed specifically for determining hydroxyproline in meat or meat products.

For routine analysis, the amino analyzer is a convenient means for treating a large number of samples. Also, for medical analyses of bodily fluids (blood, urine, plasma) rapid, but not economical, methods have been developed using kits.

After acid hydrolysis of the collagen material, several methods may be used for the quantitative determination of 3-hydroxyproline and 4-hydroxyproline by high-performance liquid-chromatography [14-16], or by gas chromatography using volatile derivatives, such as esters [17, 12, 13], trifluoroacetyl-butyl or isobutyl, or N-heptafluorobutyryl [18], laborious methods which are suitable for low contents in the samples.

The most frequently used is still the spectrophotometric method for the determination of hydroxyproline, based on the reaction with Ehrlich's reagent [19-24].

The chemical mechanism of this process can be described as follows: the structure of hydroxyproline contains a pyrrolidine ring, which may undergo oxidative dehydration to a pyrrole ring, which may be subsequently identified through a reaction with Ehrlich's reagent or p-dimethylaminobenzaldehyde. The resulting quinoid compound is intensely colored (color depends on the substituents and ranges from orange to purple).

cuprinse între 110-130°C timp de 10 până la 24 ore, fie în tuburi sigilate, fie sub reflux cu condensator de aer.

Alţi cercetători au folosit acid percloric 72% la 100°C timp de 2-4 ore [12, 13] sau acid sulfuric 3M la 105°C timp de 16 ore, cum este specificat în ISO 3496: 1994 pentru determinarea hidroxiprolinei din carne şi din produse din carne [11].

Hidroxiprolina liberă este cuantificată cel mai convenabil colorimetric după oxidarea la pirol, care este apoi reacţionat în mod specific cu p-dimetil-amino benzaldehidă (reactivul Ehrlich) pentru a produce un compus intens de culoare roşu-brun. Cloramina T este acum în general preferată pentru utilizarea ca oxidant în formarea pirolului.

Pentru materialele alimentare bogate în colagen, cel mai mult sunt folosite trei metode, dar cea mai uzitată este cea propusă de Organizaţia Internaţională pentru Standarde în ISO 3496: 1994 care a fost dezvoltată în mod special pentru determinarea hidroxiprolinei din carne sau produse din carne.

Pentru analize de rutină aminoanalizorul reprezintă un mijloc convenabil pentru tratarea unui număr mare de probe. De asemenea, pentru analizele medicale din lichide fiziologice (sânge, urină, plasmă) s-au dezvoltat metode rapide, dar nu prea economice, care folosesc kituri.

După hidroliza acidă a materialului colagenic există mai multe metode publicate pentru determinarea cantitativă sensibilă prin cromatografie lichidă de înaltă performanţă a 3-hidroxiprolină şi 4-hidroxiprolină [13-15] sau prin cromatografie de gaz folosind derivaţi volatili, cum ar fi esteri [17, 12, 13], trifluoracetil de butil sau izobutil sau N-heptafluorbutiril [18], metode laborioase şi care se pretează pentru conţinuturi reduse în probe.

Cea mai uzitată metodă rămâne însă metoda de determinare spectrofotometrică a hidroxiprolinei care se bazează pe reacţia cu reactiv Ehrlich [19-24].

Mecanismul chimic al acestui proces poate fi descris după cum urmează: hidroxiprolina conţine în structură un inel de pirolidină, care poate suferi oxidativ o dehidrogenare până la un inel de pirol, care poate fi identificat ulterior folosind o reacţie cu reactiv Ehrlich sau p-dimetilaminobezaldehidă. Compusul quinoid rezultat este intens colorat (culoarea depinde de substituenţi şi variază de la portocaliu la lila).

The use of compounds such as hydrogen peroxide, Chloramine-B or Chloramine-T is reported in the literature for oxidative dehydrogenation [24-26].

As a result of the literature review on methods for the determination of hydroxyproline in tissues, meat and meat products, bodily fluids and various types of collagen, the method presented below was adapted and used for protein-based products intended for medical use.

MATERIALS AND METHOD

Method Principle

Hydroxyproline determination is performed taking into account the following three basic steps:

a) hydroxyproline is derivatized from collagen by hydrolysis with sulphuric acid, at high temperature, 105°C;

b) hydroxyproline is oxidized by adding Chloramine-T, and the oxidation product is subjected to decarboxylation to pyrrole, in an acid medium at high temperature;

c) pyrrole combines, in an acid medium, with p-dimethylaminobenzaldehyde (DMAB) and the resulting addition product is determined by measuring the solution absorbance at 558 nm.

Hydroxyproline content is calculated and expressed as mass percentage.

Reagents

Only known analytical grade reagents (SIGMA ALDRICH) and distilled water, demineralized water or water equivalent in purity are used.

1. Sulphuric acid solution, 3 mol/L.

2. Buffer solution, pH = 6.8, consisting of:

- 26.0 g citric acid monohydrate;
- 14.0 g sodium hydroxide;
- 78.0 g sodium acetate anhydrous

Reagents are dissolved in 500 mL water and quantitatively transferred in a 1 litre volumetric flask. 250 mL N-propanol are added and water is filled up to the mark. When stored at the temperature of 4°C in the dark, this solution is stable up to a few weeks.

Pentru dehidrogenarea oxidativă, în literatură se utilizează compuşi ca perhidrol, Cloramina B sau Cloramina T [24-26].

Ca urmare a studiului de literatură privind metodele de determinare a hidroxiprolinei din ţesuturi, din carne şi produse din carne, din lichide fiziologice şi din diferitele tipuri de colagen, s-a făcut o adaptare a metodei care este expusă mai jos şi s-a folosit pentru produsele proteice pentru uz medical.

MATERIALE ŞI METODĂ

Principiul metodei

Determinarea hidroxiprolinei se efectuează luând în considerare următoarele trei etape de bază:

a) hidroxiprolina este derivatizată din colagen prin hidroliză cu acid sulfuric, la temperatură ridicată, 105°C;

b) hidroxiprolina este oxidată prin adăugarea de Cloramină-T, iar produsul de oxidare este supus, într-un mediu acid, la temperatură ridicată, decarboxilării la pirol;

c) pirolul se combină, într-un mediu acid, cu p-dimetilaminobezaldehidă (DMAB) şi produsul de adiţie obţinut este determinat prin măsurarea absorbanţei soluţiei la 558 nm.

Conţinutul de hidroxiprolină este calculat şi exprimat ca procente de masă.

Reactivi

Se utilizează numai reactivi de calitate analitică recunoscută (SIGMA ALDRICH) şi apă distilată sau apă demineralizată sau apă echivalentă ca puritate.

1. Soluţie de acid sulfuric, 3 mol/l.

2. Soluţie tampon, pH = 6,8, constând din:

- 26,0 g acid citric monohidrat;
- 14,0 g de hidroxid de sodiu;
- 78,0 g de acetat de sodiu anhidru.

Se dizolvă reactivii în 500 ml de apă şi se transferă cantitativ într-un balon cotat de 1 litru. Se adaugă 250 ml de N-propanol şi se completează până la marcaj cu apă. Când este depozitată la temperatura de 4°C în întuneric, această soluţie este stabilă timp de câteva săptămâni.

3. Chloramine-T

1.41 g N-chloro-p-toluenesulfonamide sodium salt trihydrate (Chloramine-T) are dissolved in 100 mL buffer solution. This solution is prepared immediately before use.

4. Colour reagent

10.0 g p-dimethylaminobenzaldehyde are dissolved in 35 mL perchloric acid solution [60% (m/m)] and then 65 mL isopropanol are slowly added. This solution is prepared on the day it is used.

5. Hydroxyproline, standard solutions

A stock solution is prepared by dissolving 50 mg hydroxyproline in water in a 100 mL volumetric flask. 1 drop sulphuric acid solution is added and filled up to the mark with water. This solution is stable for at least 1 month, stored at 4°C.

On the day of use, 5 mL stock solution is transferred into a 500 mL volumetric flask and filled up to the mark with water. Four standard solutions are then prepared by diluting 10 mL, 20 mL, 30 mL and 40 mL of this solution with water up to 100 ml to obtain hydroxyproline concentrations of 0.5 µg/mL, 1 µg/mL, 1.5 µg/mL, and 2 µg/mL, respectively.

Equipment

- Spectrometer, suitable for use at a wavelength of 558 nm ± 2 nm, or a photoelectric colorimeter with an interference filter with maximum absorption at 558 nm ± 2 nm. Glass cells with optical path length of 10 mm are used.
- Adjustable oven at 105°C ± 2°C;
- Analytical scales with accuracy of 0.0001 g
- Adjustable water bath at 60°C

Work Method

Sample Preparation

a. Approximately 0.5-1 g sample are weighed with an accuracy of 0.0001 g in hydrolysis tubes so that the sample does not adhere to the walls.
b. 10 mL sulphuric acid solution (1) are added, the tube is covered and placed in the oven at 105°C ± 2°C for 16 hours for hydrolysis.

3. Cloramină-T

Se dizolvă 1,41 g sare de sodiu a N-clor-p-toluensulfonamidă trihidrat (Cloramina-T) în 100 ml din soluţia tampon. Această soluţie se prepară imediat înainte de utilizare.

4. Reactiv de culoare

Se dizolvă 10,0 g p-dimetilaminobezaldehidă în 35 ml de soluţie de acid percloric [60% (m/m)] şi apoi se adaugă încet 65 ml de izopropanol. Această soluţie se prepară în ziua utilizării.

5. Hidroxiprolină, soluţii standard.

Se obţine o soluţie stoc prin dizolvarea a 50 mg de hidroxiprolină în apă într-un balon cotat de 100 ml. Se adaugă 1 picătură de soluţie de acid sulfuric şi se completează până la semn cu apă. Această soluţie este stabilă timp de cel puţin 1 lună, la 4°C.

În ziua de utilizare, se transferă 5 ml de soluţie stoc într-un balon cotat de 500 ml şi se completează până la semn cu apă. Apoi se prepară patru soluţii standard prin diluarea a 10 ml, 20 ml, 30 ml şi 40 ml din această soluţie până la 100 ml cu apă pentru a obţine concentraţiile hidroxiprolinei de 0,5 µg/ml, 1 µg/ml, 1,5 µg/ml şi respectiv 2 µg/ml.

Aparatură

- Spectrometru, adecvat pentru utilizare la o lungime de undă de 558 nm ± 2 nm, sau un colorimetru fotoelectric cu un filtru de interferenţă cu un maxim de absorbţie la 558 nm ± 2 nm. Se folosesc celule de sticlă cu drum optic de 10 mm.
- Etuvă reglabilă la 105°C ± 2°C;
- Balanţă analitică cu acurateţea de 0,0001 g;
- Baie de apă reglabilă la 60°C.

Mod de lucru

Pregătirea probei

a. Se cântaresc aproximativ 0,5-1 g de proba cu acuratete de 0,0001 g în tuburi de hidroliza astfel încât proba sa nu adere la pereti.
b. Se adauga 10 ml solutie de acid sulfuric (1), se acopera tubul si se plaseaza în etuva la 105°C ± 2°C timp de 16 ore pentru hidroliza.

c. The resulting hydrolysate is transferred into a 250 mL volumetric flask and filled with water up to the mark.
d. Using a pipette, a volume **V** is added into a 250 mL volumetric flask and filled with water up to the mark. Volume V will be taken so that hydroxyproline content would range between 0.5 µg/mL and 2 µg/mL.
e. 4.00 mL of this solution (d) is transferred into a test tube and 2.00 mL Chloramine-T reagent is added (3). The solution is stirred and left at room temperature for 20 min ± 1 min.
f. 2.00 mL colour reagent (4) is added, mixed thoroughly and the lid of the tube is covered with aluminium or plastic foil (5.6).
g. The tube is rapidly transferred into the water bath (5.7), set at 60°C and heated for 20 minutes precisely.
h. The tube is cooled under tap water stream for at least 3 minutes and left at room temperature for 30 min.
i. Absorbance is measured at 558 nm ± 2 nm in a glass cell compared to a blank of reagents.

Calibration Curve

The procedure described from item **e.** to **i.** included is performed on standard hydroxyproline using 4.00 ml of the four diluted solutions.

The calibration curve is plotted.

Values for analysed samples are read and concentration is calculated depending on the mass of the sample, dilutions and the sample volume **V** taken in item **d.**

c. Hidrolizatul obtinut se transfera într-un balon cotat de 250 ml si se aduce la semn cu apa.
d. Cu ajutorul unei pipete se introduce un volum **V** într-un balon cotat de 250 ml şi se aduce la semn cu apă. Volumul V va fi luat astfel încât conţinutul de hidroxiprolină să fie cuprins în intervalul 0,5 µg/ml-2 µg/ml.
e. Se transfera 4,00 ml din aceasta solutie (d) într-o eprubeta si se adauga 2,00 ml de reactiv Cloramina-T (3). Se amesteca si se lasa la temperatura camerei timp de 20 min ± 1 min.
f. Se adauga 2,00 ml reactiv de culoare (4), se amesteca bine si capacul tubului se acopera cu aluminiu sau folie de plastic (5.6).
g. Se transfera tubul rapid în baia de apa (5.7), stabilita la 60°C si se încalzeste timp de exact 20 de minute.
h. Se raceste tubul sub jet de apa de la robinet timp de cel putin 3 minute si se lasa la temperatura camerei timp de 30 min.
i. Se masoara absorbanta la 558 nm ± 2 nm într-o celula de sticla fata de un blank de reactivi.

Curba de calibrare

Se efectuează procedura descrisă de la punctul **e.** până la **i.** inclusiv, cu câte 4,00 ml din cele patru soluţii diluate hidroxiprolinei standard.

Se traseaza graficul de calibrare.

Se citesc valorile pentru probele luate în lucru şi se calculează concentraţia în funcţie de masa probei, diluţiile efectuate şi volumul **V** de probă luat la punctul **d.**

RESULTS AND DISCUSSIONS

Collagen biomaterials for medical use from the Collagen Department of INCDTP - Division ICPI, namely collagen hydrolysates, gels and matrices used in wound treatment (Pancol, Gevicol), were studied to determine hydroxyproline [5-9].

Samples were physically-chemically characterised and the results are presented in Table 1:

REZULTATE SI DISCUTII

Pentru determinarea hidroxiprolinei s-au luat în studiu biomateriale colagenice pentru uz medical de la Departamentul Colagen al INCDTP – Sucursala ICPI, respectiv hidrolizate, geluri şi matrici colagene folosite la tratarea plăgilor (Pancol, Gevicol) [5-9].

Probele au fost caracterizate fizico-chimic, rezultatele fiind prezentate în Tabelul 1:

Table 1: Characterization of collagen biomaterials for medical use
Tabelul 1: Caracterizarea biomaterialelor colagenice pentru uz medical

Characteristics *Caracteristici* / Biomaterial *Biomaterial*	Dry matter, % *Substanţă uscată, %*	Ash*, % *Cenuşă*, %*	Total nitrogen *, % *Azot total*, %*	Appearance *Aspect*
Pancol batch 2 *Pancol lot 2*	85.79	1.64	15.78	Spongious white foil *Folie albă spongioasă*
Pancol batch 3 *Pancol lot 3*	84.30	2.90	16.20	Spongious white foil *Folie albă spongioasă*
Gevicol batch 2 *Gevicol lot 2*	87.57	2.72	16.45	Spongious violet foil *Folie violet spongioasă*
Gevicol batch 3 *Gevicol lot 3*	86.52	1.46	14.80	Spongious violet foil *Folie violet spongioasă*
Collagen gel batch 2 *Gel colagen lot 2*	2.95	4.07	17.28	Transparent gel *Gel transparent*
Collagen gel batch 3 *Gel colagen lot 3*	4.43	2.48	15.08	Transparent gel *Gel transparent*
Hydrolysate COL 22 *Hidrolizat COL 22*	84.90	2.01	16.87	Yellowish powder *Pulbere gălbui*
Hydrolysate COL 23 *Hidrolizat COL 23*	85.85	1.56	17.15	Yellowish powder *Pulbere gălbui*

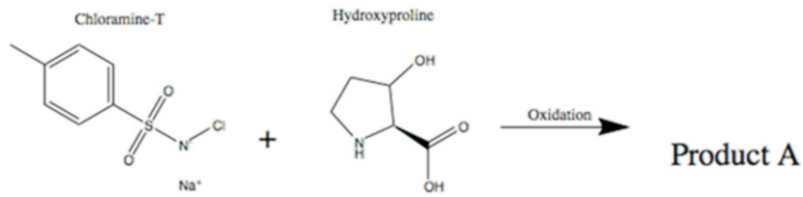
*values are recalculated without volatile matter
**valorile sunt recalculate la liber de materii volatile*

Chloramine-T (N-chloro-4-toluenesulfonamide sodium salt) was used as oxidation agent, as its indisputable advantages include easy decomposition of its excess and absence of coloured reduction products. The oxidation reaction is performed in a buffer solution with pH ~ 6.8.

Hydroxyproline oxidation is illustrated by the following reactions:

Cloramina-T (sarea de sodiu N-clor-4-toluensulfonamida) a fost utilizată ca agent de oxidare deoarece printre avantajele incontestabile ale acestui agent de oxidare sunt uşurinţa de descompunere a excesului său şi absenţa produselor de reducere colorate. Reacţia de oxidare este realizată într-o soluţie tampon cu pH ~ 6,8.

Oxidarea hidroxiprolinei este ilustrată prin reacţiile următoare:



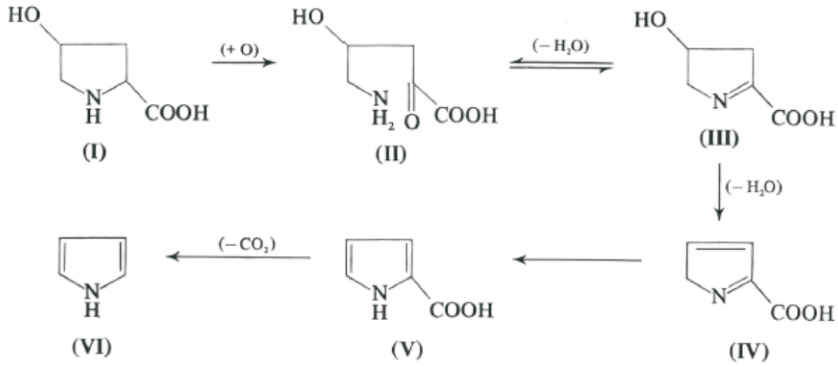
(1)

The postulated mechanism for the oxidation of hydroxyproline to pyrrole is as follows (2): first hydroxyproline (I) is oxidized to a linear compound, α-keto-γ-hydroxy-δ-aminovaleric acid (II), which is in equilibrium with the pyrroline-4-hydroxy -2-carboxylic acid with cyclic structure (III). The loss of water gives an

Mecanismul postulat pentru oxidarea hidroxiprolinei la pirol este următorul (2): mai întâi hidroxiprolina (I) este oxidată la un compus liniar, acidul α-ceto-γ-hidroxi-δ-aminovaleric (II), care se află în echilibru cu acidul pirolin-4-hidroxi-2-carboxilic cu structură ciclică (III). Pierderea de apă dă o structură

unstable structure (IV), which spontaneously rearranges to pyrrole-2-carboxylic acid (V). The final step of decarboxylation to pyrrole (VI) takes place during the heating after the addition of the chromogenic reagent for pyrrole, p-dimethylaminobenzaldehyde [27].

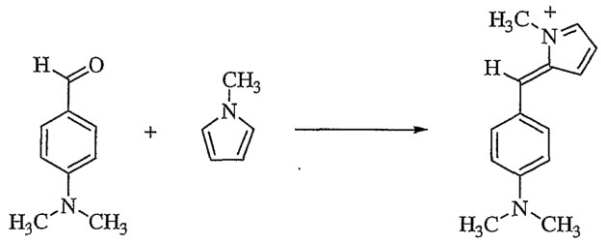
instabilă (IV), care se rearanjează spontan la pirol-2-carboxilic (V). Etapa finală de decarboxilare la pirol (VI) are loc în timpul încălzirii după adăugarea reactivului cromogen pentru pirol, respectiv p-dimetilaminobenzaldehida [27].



(2)

Chromophore formation is illustrated in the following reaction:

Formarea cromoforului cu este ilustrată în reacţia următoare:



(3)

As the products tested have a much higher collagen content, the amount of sample tested was modified. Also, as the product in question is collagen hydrolysate, we considered it necessary to use more diluted mineral acids for hydrolysis, namely 3 molar compared to the 6-12 molar used for meat and meat products. The hydrolysate filtration step was eliminated as it does not contain other components.

Both sulphuric acid 3M and hydrochloric acid 3M were used for hydrolysis of studied samples, with comparable results.

Values for hydroxyproline in collagen products for medical use determined using the adapted method are in accordance with literature data regarding hydroxyproline content. Each value is the average of 10 replicated determinations, presented in Table 2.

Pentru că produsele luate în studiu au o cantitate mult mai mare de colagen, s-a modificat cantitatea de probă luată în lucru. De asemenea, fiind vorba de hidrolizate de colagen, am considerat necesar a se utiliza pentru hidroliză acizi minerali mai diluaţi, respectiv 3 molar faţă de 6-12 molar, cât se utilizează pentru carne şi produse din carne. S-a eliminat faza de filtrare a hidrolizatului deoarece nu avem alte componente.

Pentru hidroliza probelor luate în studiu s-a utilizat atât acid sulfuric 3M, cât şi acid clorhidric 3M, rezultatele fiind comparabile.

Valorile pentru hidroxiprolina din produsele colagenice pentru uz medical determinate prin metodă adaptată sunt în concordanţă cu datele din literatură privind conţinutul de hidroxiprolină. Valorile se regăsesc în Tabelul 2, fiecare valoare reprezentând media a zece determinări replicate.

Table 2: Hydroxyproline content of collagen biomaterials for medical use
Tabelul 2: Conţinutul de hidroxiprolină al biomaterialelor colagenice pentru uz medical

Biomaterial *Biomaterial*	Pancol batch 2 *Pancol lot 2*	Pancol batch 3 *Pancol lot 3*	Gevicol batch 2 *Gevicol lot 2*	Gevicol batch 3 *Gevicol lot 3*	Collagen gel batch 2 *Gel colagen lot 2*	Collagen gel batch 3 *Gel colagen lot 3*	Hydrolysate COL 22 *Hidrolizat COL 22*	Hydrolysate COL 23 *Hidrolizat COL 23*
Hydroxyproline, % *Hidroxiprolină, %*	13.98*	14.23*	14.63*	14.55*	15.01*	15.12*	12.51*	12.77*

* values are recalculated without volatile matter
** valorile sunt recalculate la liber de materii volatile*

Validation is, therefore, an important step in determining repeatability, reproducibility and safety of the method, as it confirms whether the method is suitable for use in a given system.

Throughout the validation stages of the method, several performance parameters are monitored: limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), linearity, working range, accuracy, reliability, repeatability, internal reproducibility.

The validation method and analysis procedure of hydroxyproline content were performed in accordance to EURACHEM validation guide for analytical methods.

Working range is the interval between the lower concentration and the higher concentration of the analyte in the sample for which it was proven that the procedure has the right level of precision, accuracy and linearity.

Linearity is the ability of an analytical method to yield results proportional to the concentration of the analyte in the sample.

The calibration curve of hydroxyproline was plotted in the range of 0.1-2.5 µg/mL and the linearity range for which the correlation coefficient characterizing the regression line R2=0.990377 was visually assessed.

Validarea este, aşadar, o etapă importantă în determinarea repetabilităţii, reproductibilităţii şi siguranţei metodei, deoarece poate confirma dacă metoda este potrivită pentru a fi utilizată pentru un anumit sistem.

Pe parcursul etapelor validării metodei de analiză se urmăresc mai mulţi parametri de performanţă ai metodei: limita de detecţie (LOD), limita de cuantificare (LOQ), liniaritatea, domeniul concentraţiilor de lucru, exactitatea, fidelitatea, repetabilitatea, reproductibilitatea internă.

Metoda de validare şi procedura de analiză a conţinutului de hidroxiprolină s-a realizat în conformitate cu ghidurile de validare pentru metodele analitice EURACHEM.

Domeniul concentraţiilor de lucru reprezintă intervalul dintre concentraţia inferioară şi cea superioară a analitului din proba de analizat pentru care s-a demonstrat că procedura are un nivel potrivit de precizie, exactitate şi liniaritate.

Liniaritatea reprezintă abilitatea unei metode analitice de a obţine rezultate proporţionale cu concentraţia analitului din probă.

S-a trasat curba de etalonare a hidroxiprolinei pe domeniul 0,1-2,5 µg/ml şi s-a examinat vizual domeniul de liniaritate pentru care s-a obţinut coeficientul de corelaţie ce caracterizează dreapta de regresie R2=0,990377.

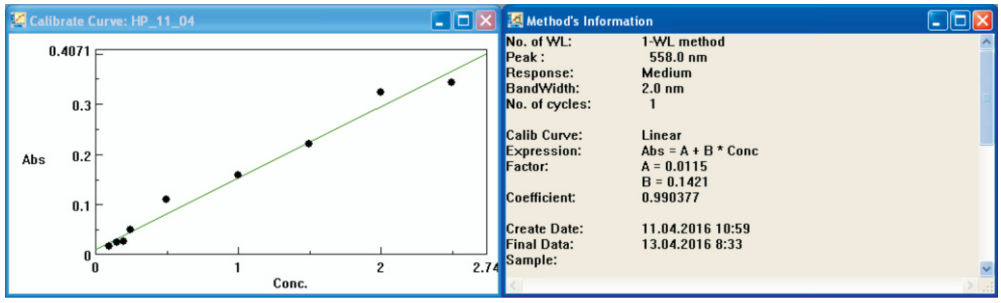


Figure 1. Linearity range for concentrations ranging between 0.1 µg/mL and 2.5 µg/mL
Figura 1. Domeniu de liniaritate pentru concentraţii cuprinse între 0,1 µg/ml şi 2,5 µg/ml

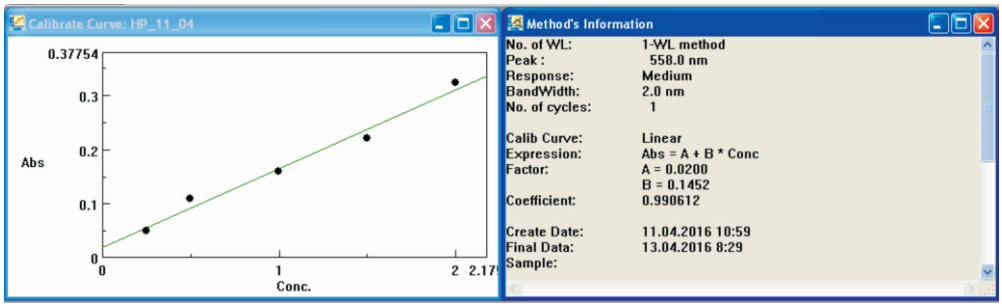


Figure 2. Linearity range for concentrations ranging between 0.5 µg/mL and 2 µg/mL
Figura 2. Domeniu de liniaritate pentru concentraţii cuprinse între 0,5 µg/ml şi 2 µg/ml

The equation of the linear regression function is:

Ecuaţia funcţiei de regresie liniară este de forma:

$$y = 0.1421x + 0.0115 \quad (4)$$

$$b = 0.0115 \text{ intensity units x } \mu g^{-1} l \quad (5)$$

$$R^2 = 0.9908$$

For good linearity, the correlation coefficient characterizing the regression line must range between 0.990 and 1.

Ten replicated samples of 1.5 µg/mL hydroxyproline concentration were prepared and Yi values were measured (integrated units) for signal intensity at 558 nm. Based on the equation of the calibration curve, Xi (µg/L) values of concentration obtained experimentally were calculated and are presented in Table 3.

Pentru o bună liniaritate, coeficientul de corelaţie ce caracterizează dreapta de regresie trebuie sa fie cuprins între 0,990 şi 1.

S-au preparat 10 probe replicate de concentraţie 1,5 µg/ml hidroxiprolină şi s-au măsurat valorile Yi (unităţi integrate) ale intensităţii semnalului de la 558 nm. Pe baza ecuaţiei curbei de etalonare s-au determinat prin calcul valorile Xi (µg/l) de concentraţie obţinute experimental şi sunt prezentate în Tabelul 3.

Table 3: Yi and Xi values obtained for the ten analysed samples
Tabelul 3: Valorile Yi şi Xi obţinute pentru cele 10 probe analizate

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Yi	0.2245	0.2249	0.2246	0.2247	0.2241	0.2250	0.2255	0.2251	0.2253	0.2250
Xi	1.4877	1.4906	1.4885	1.4892	1.4848	1.4913	1.4949	1.4921	1.4935	1.4913

$X_{average}$(det.) = 1.4904 µg/L

µ = real value of the reference material

Accuracy is the closeness between the real value and the value determined in the analysed sample and is calculated using the following formula:

X_{mediu}(det.) = 1,4904 µg/l

µ = valoarea reală a materialului de referinţă

Exactitatea reprezintă apropierea dintre valoarea reală şi valoarea găsită în proba de analizat şi se calculează cu formula:

$$\textbf{Accuracy/}\textbf{\textit{Exactitate}}\ \% = \frac{X_{mediu}}{\mu}100 \qquad \textbf{Accuracy/}\textbf{\textit{Exactitate}} = \frac{1{,}4904}{1{,}5} = 99{,}36\% \tag{6}$$

$$\textbf{Bias}\ \% = \frac{X_{mediu} - \mu}{\mu}100 \qquad \textbf{Bias} = 0.64\ \% \tag{7}$$

The performance criterion established for accuracy was to fall in the 95-105% range and the determined value is 99.36%.

Standard deviation s=0.00295 µg/mL

CV (RSD)= 0.19766%

Repeatability is a measure of the scattering degree, in a confidence interval, of the results obtained from measurement performed by the same analyst, under the same working conditions.

Criteriul de performanţă stabilit pentru exactitate a fost să se încadreze în intervalul 95-105% şi valoarea găsită este de 99,36%.

Deviaţia standard s=0,00295 µg/ml

CV (RSD)= 0,19766%

Repetabilitatea este o măsură a gradului de împrăştiere, într-un interval de încredere, a rezultatelor obţinute în urma măsurării executate de acelaşi analist, în aceleaşi condiţii de lucru.

$$r = 2.8 \times sr \tag{8}$$

where: sr = standard deviation of repeatability.

în care: sr = deviaţia standard a repetabilităţii.

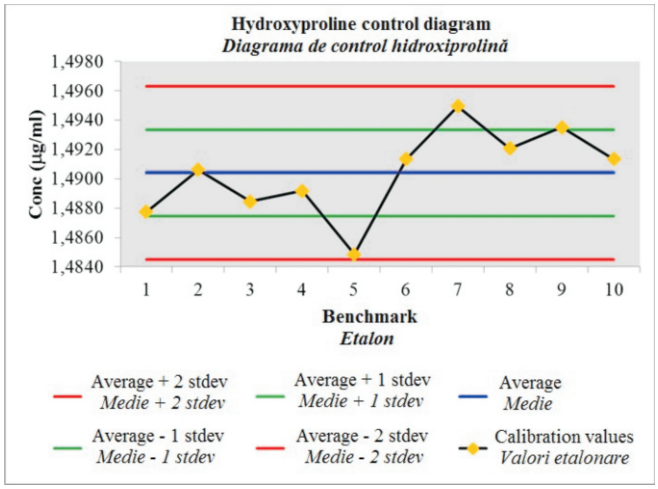


Figure 3. Hydroxyproline control diagram
Figura 3. Diagrama de control a hidroxiprolinei

The control diagram shows that eight of the replicated samples fall into the average limit + 1 standard deviation, and only two range between the average + 2 standard deviations, which means good repeatability.

We consider that the method has good repeatability, because standard deviation fell into the 0.00280-0.00298 µg/mL range.

In terms of internal reproducibility, replicated determinations were performed on the same analyte, under the same conditions imposed by the method, by the same analyst, on different days and the following were calculated for each determination: average, standard deviation, relative standard deviation (RSD).

Din diagrama de control se observă că 8 dintre probele replicate se încadrează în limita medie + 1 deviaţie standard şi doar două sunt cuprinse în medie + 2 deviaţii standard, ceea ce reprezintă o bună repetabilitate.

Considerăm că metoda are o bună repetabilitate deoarece deviaţia standard s-a încadrat în intervalul 0,00280-0,00298 µg/ml.

În ceea ce priveşte reproductibilitatea internă, s-au realizat determinări replicate pe acelaşi analit, în aceleaşi condiţii impuse de metodă, de acelaşi analist, în zile diferite şi s-au calculat pentru fiecare determinare: media, deviaţia standard, deviaţia standard relativă (RSD).

$$RL = 2{,}8 \times 1{,}6 \times sr = 1{,}6 \times r \quad (9)$$

where:

sr = standard deviation of repeatability

r = repeatability

Ten repeated analyses of samples with the concentration of 1.5 µg/L hydroxyproline were performed within ten days and Yi values of signal intensity at 558 nm were measured. Based on the equation of the calibration curve, Xi values of concentration experimentally obtained were calculated.

în care:

sr = deviaţia standard a repetabilităţii

r = repetabilitatea

S-au efectuat 10 analize repetate ale probelor de concentraţie 1,5 µg/ml hidroxiprolină în intervalul a zece zile şi s-au măsurat valorile Yi ale intensităţii semnalului de la 558 nm. Pe baza ecuaţiei curbei de etalonare s-au determinat prin calcul valorile Xi de concentraţie obţinute experimental.

Table 4: Yi and Xi values obtained for the ten analysed samples

Tabelul 4: Valorile Yi şi Xi obţinute pentru cele 10 probe analizate

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Yi	0.2350	0.2354	0.2358	0.2380	0.2345	0.2367	0.2366	0.2342	0.2370	0.2368
Xi	1.4789	1.4905	1.4933	1.5082	1.4845	1.4913	1.4949	1.4921	1.4935	1.4913

$X_{average}$(det.) = 1.4946 µg/L

s=0.008279 µg/mL

R= 1.6 x 0.008279 = 0.013246 µg/mL

RSDR = 0.8863%

For tested concentrations, R>r and within the permissible limits.

From the calculation of performance parameters of the studied method, the following are noted:

• The linearity range of the method was between 0.5-2 µg/mL, interval where the value of the

X_{mediu}(det.) = 1,4946 µg/l

s=0,008279 µg/ml

R= 1,6 x 0,008279 = 0,013246 µg/ml

RSDR = 0,8863%

Pentru concentraţiile testate, R>r şi este situat în limitele admise.

Din calculul parametrilor de performanţă ai metodei studiate se observă următoarele:

• Domeniul de liniaritate al metodei este cuprins între 0,5-2 µg/ml, interval în care valoarea

correlation coefficient was 0.9906;

- If one takes into account smaller concentrations, the value of the correlation coefficient is 0.9903;
- Limit of detection was set for a concentration of 0.1088 µg/mL;
- Limit of quantification was set for a concentration of 0.1295 µg/mL;
- Accuracy is 99.36% and represents closeness between the real value and the determined value in the analysed sample;
- Standard deviation value is 0.00285 µg/mL.

coeficientului de corelaţie a fost 0,9906;

- Dacă se iau în calcul şi concentraţiile mai mici, valoarea coeficientului de corelaţie este 0,9903;
- Limita de detecţie a fost stabilită pentru o concentraţie de 0,1088 µg/ml;
- Limita de cuantificare a fost stabilită pentru o concentraţie de 0,1295 µg/ml;
- Exactitatea este de 99,36% şi reprezintă apropierea dintre valoarea reală şi valoarea găsită în proba de analizat;
- Deviaţia standard are valoarea de 0,00285 µg/ml.

CONCLUSIONS

The paper presents a method for determination of hydroxyproline in protein biomaterials for medical use.

The method was validated in order to establish performance parameters and check compliance to the set purpose by determining: linearity, limit of detection, limit of quantification, accuracy and reliability of the method.

The method was checked to ensure repeatability and reproducibility and is supported by determinations on collagen products for medical use – hydrolysates, gels, spongious matrices – from the Collagen Department of INCDTP – Division ICPI.

Acknowledgements

This study was funded by ANCSI within "Nucleu" Program 2016 – 2017, project code PN 16 34 04 04, Contract 26/14.03.2016.

CONCLUZII

Lucrarea prezintă o metodă de determinare a hidroxiprolinei din biomateriale proteice de uz medical.

Metoda a fost validată pentru a se stabili parametrii de performanţă şi pentru verificarea conformării cu scopul propus prin determinarea: liniarităţii, limitei de detecţie, limitei de cuantificare, exactitatea şi fidelitatea metodei.

Metoda a fost verificată pentru a se asigura repetitivitatea şi reproductibilitatea şi este susţinută de determinări pe produse colagenice de uz medical – hidrolizate, geluri, matrici spongioase – provenite din Departamentul de Colagen al INCDTP – Sucursala ICPI.

Mulţumiri

Acest studiu a fost finanţat de ANCSI în cadrul Programului Nucleu 2016 – 2017, cod proiect PN 16 34 04 04, Contract 26/14.03.2016.

REFERENCES

1. Albu, M.G., Titorencu, I., Chelaru, C., The stability of some collagen hydrohels, *Revista de Pielărie Încălţăminte* (*Leather and Footwear Journal*), **2011**, 11, 1, 11-20.
2. Albu, M.G., Titorencu, I., Biocompatibility study of collagen nerve conductors, *Revista de Pielărie Încălţăminte* (*Leather and Footwear Journal*), **2011**, 11, 4, 329-340.

3. Albu, M.G., Ghica, M.V., Tang, K., Liu, J., Coara, Gh., Rheological behavior of some collagen extracts, *Revista de Pielărie Încălţăminte* (*Leather and Footwear Journal*), **2012**, 12, 3, 193-200.
4. Vranceanu, M.D., Saban, R., Albu, M.G., Antoniac, I., Preparation and characterization of collagen: amorphous calcium phosphate composites, *Revista de Pielărie Încălţăminte* (*Leather and Footwear Journal*), **2012**, 12, 3, 215-222.
5. Albu, M.G., Leca, M., Trandafir, V., Rheological behaviour of some collagen creams, *Revista de Pielărie Încălţăminte* (*Leather and Footwear Journal*), **2012**, 12, 4, 257-270.
6. Albu, M.G., Deselnicu, V., Ioannidis, I., Deselnicu, D.C., Chelaru, C., Chemical functionalization and stabilization of type I collagen with organic tanning agents, *Korean J Chem Eng*, **2015**, 32, 2, 354-361, **DOI:** 10.1007/s11814-014-0197-x.
7. Albu, M.G., Trandafir, V., Leca, M., Carsote, C., Characterization of collagen-gentamicin systems used in controlled release of drugs, *Revista de Pielărie Încălţăminte* (*Leather and Footwear Journal*), **2007**, 4, 3-9.
8. Albu, M.G., Ficai, A., Lungu, A., Preparation and characterization of collagen matrices obtained at different freezing temperatures, *Revista de Pielărie Încălţăminte* (*Leather and Footwear Journal*), **2010**, 10, 3, 39-50.
9. Shoulders, M.D., Raines, R.T., Collagen structure and stability, *Annu Rev Biochem*, **2009**, 78, 929–958.
10. Bhattacharjee, A., Bansal, M., Collagen Structure: The Madras Triple Helix and the Current Scenario, *Life*, **2005**, 57, 3, 161-172.
11. International Standards Organisation, Methods of Test for Meat and Meat Products. Part II. Determination of L(-)hydroxyproline Content, ISO 3496: **1994**.
12. Mee, J.M.L., Specific assay of hydroxyproline by gas chromatography, *J Chromatog*, **1973**, 87, 155-161.
13. Pefier, C., Ronziere, M.C., Rattner, A., Frey, J., Employment of gas liquid chromatography for the analysis of collagen amino acids in biopsy tissue, *J Chromatog*, **1980**, 182, 155-162.
14. Afkhami, A. Madrakian, T., Maleki, A., Indirect Kinetic Spectrophotometric Determination of Hydroxylamine Based on Its Reaction with Iodate, *Anal Scien*, Feb. **2006**, 22, 329-331.
15. Qi, X., Baldwin, R.P., Liquid chromatography/electrochemical detection of hydroxylamines by oxidation at a cobalt phthalocyanine chemically modified electrode, *Electroanal*, **1994**, 6, 5-6, 353–360.
16. Partridge, S.M., Elsden, D.F., Rapid methods for the determination of glucosamine, galactosamine and hydroxyproline, *Biochem J*, **1961**, 80, 34.
17. Mussini, E., Marcucci, F., Separation of prolines and hydroxyprolines by gas chromatography, *J Chromatog*, **1965**, 20, 266-269.
18. MacKenzie, S.L., Tenaschuk, D., Analysis of hydroxyproline and hydroxylysine: improved gas chromatographic method, *J Chromatog*, **1975**, 104, 176-177.
19. Woessner, J.F., Woessner, J.R., *Arch Biochem Biophys*, **1961**, 93, 440.
20. Bergman, I., Loxley, R., *Anal Chem*, **1970**, 42, 703.
21. Ignat'eva, N.Yu., Danilov, N.A., Averkiev, S.V., Obrezkova, M.V., Lunin, V.V., Sobol, E.N., Determination of Hydroxyproline in Tissues and the Evaluation of the Collagen Content of the Tissues, *J Anal Chem*, **2007**, 62, 1, 51–57.
22. Carlson, C.G., Determination of hydroxyproline content as a measure of fibrosis in nondystrophic and dystrophic skeletal muscle, Wellstone Muscular Dystrophy Center Washinton, DC, **2014**, 1-10.
23. AOAC International, in P. Cunniff (ed.), Official methods of analysis of AOAC international, **1996**, 16th ed., 39.1–39.6, Gaithersburg, MD: AOAC International.
24. http://www.sigmaaldrich.com/technicaldocuments/protocols/biology/hydroxyproline-assay-kit-mak008.html 2016
25. http://www.scientistsolutions.com/forum/biochemistry-assay-development-protocols/hydroxyproline-assay

26. CEN/TC 289/WG 1 - NWIP Leather - Chemical tests - Determination of the designation “leatherboard” by a gravimetric method - determination of hydroxyproline in leather fiberboard - draft **2012**.
27. Etherington, D.J., Sims, T.J., Detection and Estimation of Collagen, *J Sci Food Agric*, **1981**, 32, 539-546.

Article received/Data primirii articolului: 26.05.2016
Accepted/Acceptat la data: 14.06.2016

SPAȚIUL EUROPEAN AL CERCETĂRII

NANO_SAFE_LEATHER PROJECT
PROIECTUL NANO_SAFE_LEATHER

R&D National Institute for Textiles and Leather - Leather and Footwear Research Institute Division (ICPI) is the coordinator of the project "The Effect on Human Health of Ag/TiO_2NM-treated Leathers for Footwear Industry", NANO_SAFE_LEATHER, funded by Romanian National Authority for Scientific Research and Innovation, CCCDI – UEFISCDI (PNIII, European and International Cooperation – Horizon 2020), under the ERA-NET SIINN (Safe Implementation of Innovative Nanoscience and Nanotechnology, 2nd SIINN Joint Transnational Call) for 2015-2018.

The overall objective of the NANO_SAFE_LEATHER project aims to contribute to the industrial development of safer and advanced leathers that make use of Ag/TiO_2NMs, which are ecological alternatives to volatile organic biocides, organic solvents and halogenated flame retardants. These newly developed materials are expected to be useful for footwear manufacturing with advanced protection against fungus, bacteria, dirt and heat/fire risks in relation to daily or professional use. The efficient anchoring of Ag/TiO_2NMs on the leather surface ensures minimum risk of human skin penetration.

The project work shall be performed in a period of time of 36 months, starting in 2015. TwoR&D organizations, two universities and a company from 3 countries will participate in this SIINN funded project.

The main partners of the project are: Universidade do Minho, Portugal, represented by Prof. Sandra Carvalho; Montan-Universität Leoben (MUL), Austria, represented by Dr. Robert Franz; R&D National

Institutul Naţional de Cercetare-Dezvoltare pentru Textile şi Pielărie - Sucursala Institutul de Cercetări Pielărie Încălţăminte (ICPI) este coordonatorul proiectului „Efectul asupra sănătăţii umane al pieilor tratate cu Ag/TiO_2NM pentru industria de încălţăminte", NANO_SAFE_LEATHER, finanţat de Autoritatea Naţională pentru Cercetare Ştiinţifică şi Inovare, CCCDI - UEFISCDI (PNIII, Cooperare Europeană şi Internaţională – Orizont 2020), în cadrul programului ERA-NET SIINN (Implementarea în siguranţă a nanoştiinţei şi nanotehnologiei inovatoare, al 2-lea apel comun transnaţional SIINN) pentru 2015-2018.

Obiectivul general al proiectului NANO_SAFE_LEATHER este contribuţia la dezvoltarea industrială a pieilor performante şi mai sigure, cu ajutorul nanomaterialelor pe bază de Ag/TiO_2 (Ag/TiO_2NMs), alternative ecologice pentru biocidele organice volatile, solvenţii organici şi substanţele ignifuge halogenate. Aceste noi materiale dezvoltate vor fi utile la fabricarea încălţămintei cu protecţie avansată împotriva ciupercilor, bacteriilor, murdăriei şi riscurilor termice/de incendiu, pentru uz zilnic sau profesional. Ancorarea eficientă a Ag/TiO_2NMs pe suprafaţa pielii asigură un risc minim de pătrundere în pielea umană.

Activităţile proiectului se vor desfăşura într-o perioadă de 36 de luni, începând cu anul 2015. Două organizaţii de cercetare şi dezvoltare, două universităţi şi o companie din 3 ţări vor participa la acest proiect finanţat de SIINN.

Principalii parteneri ai proiectului sunt: Universidade do Minho, Portugalia, reprezentată de Prof. Sandra Carvalho; Montan-Universität Leoben (MUL), Austria, reprezentată de Dr. Robert Franz;

Institute for Textiles and Leather - Leather and Footwear Research Institute Division (ICPI) represented by Dr. Carmen Gaidau, "Nicolae Simionescu" Institute of Cellular Biology and Pathology, represented by Dr. Manuela Calin and SC TARO Comimpex SRL represented by Mr. Tonea Stoica.

The main progresses of the project were the two main routes for leather surface finishing with Ag/TiO_2NMs based on electrolytical synthesized powders embedded in film forming polymers and by sputtering deposition. The multifunctional properties of leather surface treated with Ag/TiO_2NMs were presented as alternative to the volatile organic chemicals used for their biocidal and flame retardant properties. The other new characteristics, such as photoinduced selfcleaning properties, allow to increase leather products durability and to reduce the use of halogen based solvents for dry cleaning. The impact of leathers treated with Ag/TiO_2NMs on consumers will be evaluated through tribological measurement of wearing behaviour as an innovative tool.

Cytotoxicological tests on doped NMs and on leached solutions as well as the *in silico* studies will allow estimating the toxicological impact of Ag/TiO_2NMs use for consumer goods.

The project will contribute to the industrial development of safer and advanced leathers that make use of Ag/TiO_2NMs, which are ecological alternatives to volatile organic biocides, organic solvents and halogenated flame retardants. Other contributions of the project will be the setting of Best Practice Technology for leather surface functionalization with Ag/TiO_2NMs based on toxicology evaluation on human health, setting the handling of Ag/TiO_2NMs guide based on toxicology assessment on human respiratory system, standard-operating-procedures (SOP) and the Guide elaboration for Ag/TiO_2NMs use in leather and footwear industries.

More and up-to-date information is available at www.nanosafeleather.eu.

Institutul Naţional de Cercetare-Dezvoltare pentru Textile şi Pielărie - Sucursala Institutul de Cercetări Pielărie Încălţăminte (ICPI), reprezentată de Dr. Carmen Gaidău, Institutul de Biologie şi Patologie Celulară „Nicolae Simionescu", reprezentată de Dr. Manuela Călin şi SC TARO Comimpex SRL reprezentată de dl Tonea Stoica.

Principalele progrese ale proiectului au fost cele două căi principale de finisare a suprafeţelor pielii cu Ag/TiO_2NMs pe bază de pulberi electrolitice sintetizate încorporate în polimeri cu capacitate de formare a peliculelor şi prin depunere prin pulverizare. Proprietăţile multifuncţionale ale suprafeţei pielii tratate cu Ag/TiO_2NMs au fost prezentate ca alternativă la substanţele chimice organice volatile utilizate pentru proprietăţile lor biocide şi ignifuge. Celelalte caracteristici noi, cum ar fi proprietăţile de auto-curăţare fotoinduse, permit creşterea durabilităţii produselor din piele şi reducerea utilizării de solvenţi pe bază de halogen pentru curăţare uscată. Impactul pieilor tratate cu Ag/TiO_2NMs asupra consumatorilor se va evalua prin măsurarea tribologică a comportamentului la uzură ca un instrument inovator.

Testele de citotoxicologie ale NMs dopate şi ale soluţiilor dezalcalinizate, precum şi studiile *in silico* vor permite estimarea impactului toxicologic al utilizării Ag/TiO_2NMs în bunuri de larg consum.

Proiectul va contribui la dezvoltarea industrială a pieilor performante şi mai sigure, cu ajutorul Ag/TiO_2NMs, alternative ecologice pentru biocidele organice volatile, solvenţii organici şi substanţele ignifuge halogenate. Alte contribuţii ale proiectului vor fi stabilirea celor mai bune practici tehnologice privind funcţionalizarea suprafeţei pielii cu Ag/TiO_2NMs pe baza evaluării toxicologice asupra sănătăţii umane, realizarea unui ghid de utilizare a Ag/TiO_2NMs pe baza evaluării toxicologice asupra sistemului respirator uman, proceduri de operare standard (POS), precum şi elaborarea ghidului de utilizare a Ag/TiO_2NMs în industriile de pielărie şi încălţăminte.

Mai multe informaţii actualizate sunt disponibile la adresa www.nanosafeleather.eu.

KNOWLEDGE4FOOT (K4F)

KNOWLEDGE PLATFORM FOR TRANSFERRING RESEARCH AND INNOVATION IN FOOTWEAR MANUFACTURING

Programme: ERASMUS+ _ Key Action 2: Cooperation for Innovation and the Exchange of Good Practices/Strategic Partnerships for Higher Education
Agreement No: 2015-1-RO01-KA203-015198
Duration: 36 Months (01.09.2015 – 31.08.2018)

PARTNERS

The partnership of K4F project is set-up in order to bridge the world of Higher Education, Research and Enterprise, and to exchange innovation in all directions for a common purpose. The project consortium involves 8 organizations with different expertise and competences such as universities, research centres, and SMEs from Romania, Spain, Portugal, Greece and Croatia and the European Confederation of Footwear Industry (CEC) with headquarters in Brussels.

The project Coordinator is "GHEORGHE ASACHI" TECHNICAL UNIVERSITY of Iasi, Romania and Agentia Nationala pentru Programe Comunitare in Domeniul Educatiei si Formarii Profesionale (ANPCDEFP) is the Romanian Implementing Agency for Erasmus+ Programme, in the period 2014-2020.

The other Romanian partner involved in this project is: The National Research and Development Institute for Textiles and Leather (INCDTP) - Division: Leather and Footwear Research Institute (ICPI) from Bucharest.

PARTENERI

Parteneriatul proiectului K4F s-a constituit pentru a reuni sectoarele de învăţământ superior, cercetare şi întreprinderile, şi pentru a face schimb de inovare în toate direcţiile pentru un scop comun. Consorţiul proiectului cuprinde 8 organizaţii cu expertiză şi competenţe diferite, precum universităţile, centrele de cercetare şi IMM-urile din România, Spania, Portugalia, Grecia şi Croaţia, şi Confederaţia Europeană a Industriei de Încălţăminte (CEC) cu sediul în Bruxelles.

Coordonatorul proiectului este UNIVERSITATEA TEHNICĂ "GHEORGHE ASACHI" din Iaşi, România, iar Agenţia Naţională pentru Programe Comunitare în Domeniul Educaţiei şi Formării Profesionale (ANPCDEFP) este agenţia de implementare din România pentru programul Erasmus+, în perioada 2014-2020.

Celălalt partener român implicat în acest proiect este Institutul Naţional de Cercetare-Dezvoltare pentru Textile şi Pielărie (INCDTP) - Sucursala: Institutul de Cercetări Pielărie Încălţăminte (ICPI) din Bucureşti.

AIMS & OBJECTIVES

Making the knowledge triangle work by connecting Higher Education, Research and Business for excellence is one of the goals of the EU policies and national political priorities in all EU countries. The partners of the Erasmus+ Knowledge4Foot project recognize the benefits for the sector's growth of such partnership approach, and will develop innovative tools for transferring knowledge to the European footwear sector by providing the High Education (HE) students and professionals skilled for applied research and innovation.

Specific objectives of the project are:

- to develop active collaboration among universities, business community and research centres to assess the needs of skills for innovation and technological transfer;
- to design, test and implement a common curriculum for virtual internships and the related e-learning content, which incorporates a creative thinking and problem-solving approach;
- to set-up a Knowledge Platform that facilitates the transfer of innovation in footwear manufacturing by simulating the developing stages of the research projects.

Target Groups:

- Students enrolled in Higher Education
- Professionals involved in top and middle management in footwear companies: mangers, designers, engineers and technicians.

SCOP & OBIECTIVE

Dezvoltarea unui triunghi al cunoaşterii prin conectarea învăţământului superior, cercetării şi afacerilor pentru excelenţă se numără printre obiectivele politicilor UE şi prioritătile politice naţionale ale tuturor ţărilor UE. Partenerii proiectului Erasmus+ Knowledge4Foot recunosc beneficiile unei asemenea abordări a parteneriatului pentru dezvoltarea sectorului şi vor dezvolta instrumente inovatoare pentru transferul de cunoştinţe către sectorul european de încălţăminte prin pregătirea studenţilor şi profesioniştilor cu studii superioare şi cu aptitudini pentru cercetare aplicată şi inovare.

Obiectivele specifice ale proiectului sunt:

Δ dezvoltarea unei colaborări active între universităţi, comunitatea de afaceri şi centre de cercetare pentru a evalua necesitatea competenţelor pentru inovare şi transfer tehnologic;

Δ proiectarea, testarea şi implementarea unui curriculum comun pentru stagii de pregătire virtuale şi materialul pentru e-learning aferent, care cuprinde o abordare bazată pe gândire creativă şi rezolvarea problemelor;

Δ crearea unei platforme de cunoştinţe care să faciliteze transferul de inovare în fabricarea încălţămintei prin simularea stadiilor de dezvoltare ale proiectelor de cercetare.

Grupuri ţintă:

Δ Studenţi înscrişi în ciclul de învăţământ superior

Δ Profesionişti implicaţi în managementul de nivel superior şi intermediar din firmele producătoare de încălţăminte: manageri, designeri, ingineri şi tehnicieni.

We bridge the world of Education, Research and Business!

ENVISAGED RESULTS

The **Knowledge4Foot** project contributes to promoting European excellence and high quality in higher education. It introduces innovative tools to adapt and update the learning and training curricula of higher education providers for managers, designers, and engineers, in order to achieve greater creativity, innovation and high performance in European footwear manufacturing and related sectors.

REZULTATE PRECONIZATE

Proiectul **Knowledge4Foot** contribuie la promovarea excelenţei europene şi a calităţii în învăţământul superior. Acesta introduce instrumente inovatoare pentru a adapta şi actualiza programele de învăţare şi formare ale instituţiilor de învăţământ superior pentru manageri, designeri şi ingineri, pentru a obţine creativitate, inovare şi performanţe mai mari în sectorul european de fabricare a încălţămintei şi în sectoarele conexe.

The ***envisaged project results/products*** are the following:

- Mapping the knowledge triangle for transferring research and innovation in footwear manufacturing;
- Training programme and e-learning content for transferring research and innovation;
- Multimedia handbook for project-based training and virtual placement of HE students and trainees from SMEs;
- Knowledge4Foot Platform for Transferring Research and Innovation in Footwear Manufacturing;
- Entrepreneurial thinking in footwear manufacturing - Book of lectures for Intensive summer training course;
- Research and Innovation in Footwear Manufacturing - Final conference organisation;
- Learning/Teaching/Training Activities: Intensive programme for higher education learners;
- Dissemination activities.

Rezultatele/produsele preconizate ale proiectului sunt următoarele:

Δ Cartografierea triunghiului cunoaşterii pentru transferul de cercetare şi inovare în fabricarea încălţămintei;

Δ Program de formare şi material de e-learning pentru transferul de cercetare şi inovare;

Δ Manual multimedia pentru formarea pe bază de proiect şi plasarea virtuală a studenţilor şi a stagiarilor din IMM-uri;

Δ Platforma Knowledge4Foot pentru Transferul Cercetării şi Inovării în Fabricarea Încălţămintei;

Δ Gândire antreprenorială în fabricarea încălţămintei - Volum de prelegeri pentru cursul intensiv de vară;

Δ Cercetare şi Inovare în Fabricarea Încălţămintei - organizarea conferinţei finale;

Δ Activităţi de învăţare/predare/formare: program intensiv pentru studenţii din învăţământul superior;

Δ Activităţi de diseminare.

NEWS & EVENTS

In order to be permanently informed and to benefit by the project results, please visit our **Knowledge4Foot Platform for Transferring Research and Innovation in Footwear Manufacturing** at: **www.knowledge4foot.eu**.

ŞTIRI & EVENIMENTE

Pentru a fi informaţi în permanenţă şi pentru a beneficia de rezultatele proiectului, vă rugăm să vizitaţi **Platforma Knowledge4Foot pentru Transferul Cercetării şi Inovării în Fabricarea Încălţămintei** la adresa: **www.knowledge4foot.eu**.

DISCLAIMER

The European Commission support for the production of this publication does not constitute an endorsement of the contents which reflects the views only of the authors, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.

PARTNERS/ PARTENERI:

FIT TO COMFORT (FIT2COM)

SKILLS ALLIANCE FOR COMFORT & HEALTHY FOOTWEAR MANUFACTURING NEW QUALIFICATION PROFILE AND INNOVATIVE TRAINING OPPORTUNITIES

Programme: ERASMUS+ _ Key Action 2: Sector Skills Alliances
Project number: 562333-EPP-1-2015-1-PT-EPPKA2-SSA
Duration: 36 Months (01.11.2015 – 31.10.2018)

PARTNERS

The partnership involves organizations with different expertise and objectives such as research centres, vocational/education centres, universities and regulatory bodies from Portugal, Spain, Germany and Romania and the European Confederation of Footwear Industry (CEC) settled in Brussels. The project Coordinator is CENTRO TECNOLÓGICO DO CALÇADO DE PORTUGAL (CTCP) from Portugal.

The Romanian partners involved in this project are: Technical University "Gheorghe Asachi" – Iasi, National Centre for Technical and Vocational Education Development (CNDIP) – Bucharest and INCDTP-Division: Leather and Footwear Research Institute – Bucharest.

AIMS & OBJECTIVES

The project overall objective is to create, develop and certify a new occupation and qualification profile on "Expert in Comfort & Healthy footwear manufacturing" and the correspondent flexible innovative training combining ICT and work based learning.

The training contents to be developed will allow to cope with the skills' gap as well as to provide opportunities to upskill already existing employees with the final goal of enhancing the added value of European footwear.

PARTENERI

Parteneriatul reuneşte organizaţii cu competenţe şi obiective diferite, precum centre de cercetare, centre profesional/educaţionale, universităţi şi organisme de reglementare din Portugalia, Spania, Germania şi România şi Confederaţia Europeană a Industriei de Încălţăminte (CEC) cu sediul în Bruxelles. Coordonatorul proiectului este CENTRO TECNOLÓGICO DO CALÇADO DE PORTUGAL (CTCP) din Portugalia.

Partenerii români implicaţi în acest proiect sunt: Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" – Iaşi, Centrul Naţional de Dezvoltare a Învăţământului Profesional şi Tehnic (CNDIP) – Bucureşti şi INCDTP – Sucursala: Institutul de Cercetări Pielărie Încălţăminte – Bucureşti.

SCOP & OBIECTIVE

Obiectivul general al proiectului este de a crea, dezvolta şi certifica o nouă profesie şi un profil de calificare, şi anume, „Expert în fabricarea încălţămintei care asigură confort şi sănătate" şi programul de instruire flexibil şi inovator care îmbină TIC şi învăţarea bazată pe muncă.

Conţinutul programului de instruire care se va dezvolta va permite reducerea decalajului competenţelor şi va oferi oportunităţi de dezvoltare a competenţelor angajaţilor existenţi, având ca scop final creşterea valorii adăugate a încălţămintei europene.

ENVISAGED RESULTS

The main results/ products envisaged by the FIT2COM project are the following:

- Evidence based research on training needs/ opportunities on comfort & healthy footwear;
- New qualification profile "Expert in Comfort & Healthy Footwear Manufacturing";
- Training programme on Comfort & Healthy Footwear Manufacturing;
- Learning Units' Contents – pedagogical material;
- B-learning course on Comfort & Healthy Footwear - a demo and an user guide will be available;
- Manual for trainers / tutors - a package of methodologies and guidelines to support the trainers and tutors/coaches who will be involved in the piloting activities;
- Piloting sessions for prototypes of comfort & healthy footwear obtaining;
- Profile and training recognized and certified: consolidated document containing the profile and training curricula certified by the regulatory bodies in each country, included all the work of the recognition and certification envisaging the final certification at national level;
- Dissemination & Exploitation Plan.

NEWS & EVENTS

To be permanently informed and to benefit from the **FIT2COM** project results, please visit our website: **www.fit2comfort.eu**.

REZULTATE PRECONIZATE

Principalele rezultate/produse preconizate în cadrul proiectului FIT2COM sunt următoarele:

Δ Studiu asupra nevoilor/oportunităţilor de instruire privind încălţămintea care asigură confort şi sănătate;

ΔUn nou profil de calificare „Expert în fabricarea încălţămintei care asigură confort şi sănătate";

Δ Program de formare privind fabricarea încălţămintei care asigură confort şi sănătate;

ΔConţinut unităţi de învăţare – material pedagogic;

Δ Curs în sistemul b-learning privind încălţămintea care asigură confort şi sănătate - vor fi disponibile un demo informatic şi un ghid de utilizare;

Δ Manual pentru formatori / tutori - un set de metodologii şi ghiduri pentru a sprijini formatorii şi tutorii/instructorii care vor fi implicaţi în activităţile pilot;

Δ Sesiuni pilot de obţinere a prototipurilor de încălţăminte care asigură confort şi sănătate;

Δ Recunoaşterea şi certificarea profilului şi a programului de formare: document unificat care conţine profilul şi programa cursului certificate de organismele de reglementare din fiecare ţară, inclusiv activităţile pentru obţinerea recunoaşterii şi certificării la nivel naţional;

Δ Plan de diseminare şi exploatare.

ŞTIRI & EVENIMENTE

Pentru a fi informaţi în permanenţă şi pentru a beneficia de rezultatele proiectului **FIT2COM**, vă rugăm să vizitaţi site-ul: **www.fit2comfort.eu**.

Co-funded by the Erasmus+ Programme of the European Union

DISCLAIMER

The European Commission support for the production of this publication does not constitute an endorsement of the contents which reflects the views only of the authors, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.

PARTNERS / PARTENERI:

APEL COMUN ROMÂNIA – FRANŢA PENTRU PROIECTE DE MOBILITĂŢI

Obiectivul acestui apel comun România – Franţa este acela de a întări schimbul ştiinţific şi tehnologic de excelenţă între laboratoarele de cercetare din cele două ţări, cu scopul de a dezvolta noi forme de cooperare în domenii inovatoare.

La competiţie se înaintează propuneri de proiecte comune care, prin metodele de executare prezintă o importanţă ştiinţifică şi practică majoră şi au ca scop dezvoltarea şi aprofundarea cunoştinţelor şi activităţilor de cercetare şi eficientizarea mobilităţii cercetătorilor, schimbul de experienţă şi accesul la infrastructura de cercetare de scară medie şi înaltă.

Buget

Bugetul total al competiţiei prevăzut de ANCSI este de 700.000 lei, în limita bugetului aprobat prin Legea bugetului, din care în anul 2017 bugetul prevăzut este de 350.000 lei şi în anul 2018 de 350.000 lei.

Durata unui proiect este de maxim 24 luni, dar nu mai târziu de luna decembrie 2018.

Toate proiectele conţin cel mult 2 vizite de scurtă durată (maxim 7 zile fiecare/an/proiect) şi o vizită de lungă durată (maxim 30 zile/vizită/proiect) pentru cercetătorii francezi în România (diurnă de 60 RON/zi/pers şi cazare la hotel maxim 3 stele).

Prezentarea propunerii

Cercetătorii din România depun propunerile de proiecte la UEFISCDI până la data de 25 iulie 2016, ora 16:00.

Depunerea propunerilor de proiecte se face într-o singură etapă, utilizându-se platforma de depunere online www.uefiscdi-direct.ro, **care va fi disponibilă începând cu data de 04.07.2016**.

Mai multe informaţii: http://www.research.ro

PROIECTE DE MOBILITATE PENTRU CERCETĂTORI CU EXPERIENŢĂ DIN DIASPORA - COMPETIŢIE 2016

Scopul acestor proiecte este capitalizarea expertizei şi experienţei acumulate de cercetători români de prestigiu din diaspora, în manifestări ştiinţifice care facilitează transferul de competenţe, în vederea creării unui spaţiu al dialogului şi al colaborării între cercetătorii români, indiferent de locul unde trăiesc şi lucrează.

Obiective

- creşterea numărului de cercetători şi formarea unor generaţii deschise către mediul ştiinţific european şi internaţional, în conformitate cu obiectivele Spaţiului European de Cercetare;
- creşterea atractivităţii carierei de cercetare prin crearea unui cadru instituţional similar cu cel al organizaţiilor de cercetare din ţările dezvoltate (promovare în carieră pe baze etice şi de performanţă);
- îmbunătăţirea performanţelor grupurilor de cercetători.

Buget

Bugetul alocat acestui subprogram pentru anul 2016 este de maximum 414.000 lei.

Durata

Durata unei vizite este de maxim o săptămână.

Prezentarea cererilor de finanţare

Depunerea aplicaţiilor este continuă, până la data de 31 octombrie 2016, utilizându-se platforma de depunere online www.uefiscdi-direct.ro.

Mai multe informaţii: http://uefiscdi.gov.ro

BURSA TÂNĂRULUI CERCETĂTOR - COMPETIŢIE 2016

Scopul acestei burse este susţinerea absolvenţilor de liceu, promoţiile 2015 şi 2016, cu rezultate excelente, obţinute la olimpiade internaţionale sau în competiţii internaţionale/globale de inovare în ultimii doi ani de liceu, în vederea pregătirii într-o instituţie de învăţământ superior din România pentru dezvoltarea unei cariere ştiinţifice.

Obiective

- stimularea tinerilor performanţi pentru efectuarea în ţară a studiilor universitare;
- integrarea absolventului/absolventei de liceu într-un grup de cercetare performant dintr-o instituţie de învăţământ superior din România sau dintr-un laborator public de cercetare ce are acord de colaborare cu instituţia de învăţământ superior ce înmatriculează studentul.

Buget

Bugetul total pentru această competiţie este de maximum 3.150.000 lei, din care pentru anul 2016 este de maximum 260.000 lei.

Durata

Bursa se acordă pentru o perioadă de 24 luni.

Calendar

Pentru absolvenţii de liceu promoţia 2016 cererile de acordare a burselor se primesc până la data de 31.08.2016, ora 16:00.

Acordarea bursei va începe din octombrie 2016.

Mai multe informaţii: http://uefiscdi.gov.ro

PROIECTE DE MOBILITATE PENTRU TINERI CERCETĂTORI DIN DIASPORA - COMPETIŢIE 2016

Scopul acestor proiecte este crearea mediului propice schimburilor de experienţă şi expertiză ce au la bază transferul de aptitudini, competenţe dobândite de tinerii cercetători români aflaţi în diaspora şi cei din ţară, în vederea consolidării cooperării între aceştia.

Obiective

- creşterea numărului de cercetători şi formarea unor generaţii deschise către mediul ştiinţific european şi internaţional, în conformitate cu obiectivele Spaţiului European de Cercetare;

- creşterea atractivităţii carierei de cercetare prin crearea unui cadru instituţional similar cu cel al organizaţiilor de cercetare din ţările dezvoltate (promovare în carieră pe baze etice şi de performanţă);
- îmbunătăţirea performanţelor grupurilor de cercetători.

Buget

Bugetul alocat acestui subprogram pentru anul 2016 este de maximum 630.000 lei.

Durata

Durata unui stagiu este de maxim 30 zile.

Prezentarea cererilor de finanţare

Depunere continuă, până la data de 31 octombrie 2016.

Mai multe informaţii: http://uefiscdi.gov.ro

EVENIMENTE INTERNE ŞI INTERNAȚIONALE

XXXIV IULTCS CONGRESS
5-8 FEBRUARY 2017, CHENNAI, INDIA

The next IULTCS Global Congress will take place from 5-8 February 2017, earlier in the year than usual, as it is timed to take place the week after the Chennai leather fair. The Congress - under the slogan "Science and Technology for Sustainability of Leather" - will be co-hosted by the CSIR-CLRI, one of the biggest leather Training and Research Institutes in the world, and ILTA, the Indian Leather Technologists Association. This event will bring together scientists and leather researchers from all over the world to present the latest ideas, projects, research results, and concepts related to the raw material collagen and the process of leather making. The event will include verbal and visual presentations. IULTCS President Dietrich Tegtmeyer said that he is certain the Chennai Congress will be a great success, and he added: "*Although information is easily shared electronically today, nothing can replace the direct interaction that occurs at an event like this. This helps with the sharing of ideas and creates opportunities for networking that helps stimulate those creative ideas critical for industry progress*".

All chemists and technologists in the field of leather are encouraged to join this event and those thinking about submitting a paper or presentation should keep in mind the rapidly approaching October deadline for submissions. Registration for the event starts in June.

More information: www.iultcs2017.org

AL XXXIV-LEA CONGRES IULTCS
5-8 FEBRUARIE 2017, CHENNAI, INDIA

Următorul Congres Global IULTCS va avea loc în perioada 5-8 februarie 2017, mai devreme în cursul anului decât de obicei, deoarece este programat să aibă loc în săptămâna care urmează după târgul de pielărie din Chennai. Congresul - sub sloganul „Ştiinţă şi Tehnologie pentru Durabilitatea Pielii" - va fi găzduit de către CISR-CLRI, unul dintre cele mai mari institute de cercetare şi de educaţie în domeniul pielăriei şi ILTA, Asociaţia Tehnologilor Pielari din India. Acest eveniment va reuni oameni de ştiinţă şi cercetători din domeniul pielăriei din întreaga lume, care îşi vor prezenta cele mai recente idei, proiecte, rezultate ale cercetării şi concepte legate de colagen ca materie primă şi de procesul de fabricare a pielii. Evenimentul va include prezentări orale şi vizuale. Preşedintele IULTCS, Dietrich Tegtmeyer, a afirmat că are certitudinea că Congresul din Chennai va fi un mare succes, adăugând: „*Deşi informaţia este astăzi uşor de distribuit pe cale electronică, nimic nu poate înlocui interacţiunea directă care are loc la un eveniment ca acesta. Acest lucru ajută la schimbul de idei şi creează oportunităţi pentru dezvoltarea de relaţii profesionale, care ajută la stimularea acestor idei creative decisive pentru progresul industriei*".

Toţi chimiştii şi tehnologii din domeniul pielăriei sunt încurajaţi să participe la acest eveniment, iar cei care vor să trimită o lucrare sau o prezentare ar trebui să ţină cont de faptul că termenul limită din octombrie se apropie rapid. Înscrierea pentru participarea la eveniment începe în luna iunie.

Mai multe informaţii: www.iultcs2017.org

COLLECTIONS MANAGEMENT TRAINING PROGRAM
JULY, SEPTEMBER & NOVEMBER 2016, CROATIA

Fionn Zarubica Learn in cooperation with The Ethnographic Museum of Istria and with the support of Istrian de Dignan Ecomuseum is offering an intensive six-week Collections Management training program in the newly restored and revitalized historic buildings of Vodnjan.

Led by Fionn Zarubica, an expert in Museum Collections Management, the goal of the program is to train museum and collections care professionals – those who work directly with local collections – to make ongoing and meaningful improvements to the state of their collections; thus making them accessible to the public through exhibitions, and to scholars and educators, supporting efforts to protect and preserve Croatia's significant cultural heritage and promote economic growth. The program is divided in three two-week sessions (July-September-November), is conducted in English and is free of charge. The participants are required to attend all classes to receive a certificate of attendance.

The program will include theoretical training in the classroom and online, including lectures, audio/video presentations and literature, practical training, work on case studies with an emphasis on teamwork, interaction and exchange of knowledge between the lecturers and colleagues from other institutions and application of acquired theoretical and practical knowledge.

SESSION I – Introduction To Collections Management

Schedule: Mondays thru Fridays, July 18 – 29, 2016; 10:00 AM – 4:00 PM

SESSION II – Working With Objects

Schedule: Mondays thru Fridays, September 12 – 23, 2016; 10:00 AM – 4:00 PM

SESSION III – Progressed Studies in Collections Management

Schedule: Mondays thru Fridays, November 14 – 25, 2016; 10:00 AM – 4:00 PM

Application Deadline: July 8, 2016

More information: http://www.istrian.org

PROGRAM DE INSTRUIRE ÎN GESTIUNEA COLECŢIILOR MUZEALE
IULIE, SEPTEMBRIE ŞI NOIEMBRIE 2016, CROAŢIA

Fionn Zarubica Learn în colaborare cu Muzeul Etnografic din Istria şi cu sprijinul Istrian de Dignan Ecomuseum oferă un program intensiv de instruire în gestiunea colecţiilor muzeale, care va avea loc în clădirile istorice recent restaurate şi revitalizate din oraşul Vodnjan.

Sub conducerea lui Fionn Zarubica, expertă în gestionarea colecţiilor muzeale, obiectivul programului este de a instrui profesionişti din muzee - cei care lucrează în mod direct cu colecţiile locale - în realizarea unor îmbunătăţiri continue şi semnificative ale colecţiilor de care se ocupă, făcându-le astfel accesibile publicului prin expoziţii, adresându-se şi oamenilor de ştiinţă şi profesorilor, care sprijină eforturile de protejare şi conservare a patrimoniului cultural semnificativ al Croaţiei şi care promovează creşterea economică. Programul este împărţit în trei sesiuni de două săptămâni (iulie-septembrie-noiembrie), se desfăşoară în limba engleză şi este gratuit. Participanţii trebuie să participe la toate cursurile pentru a primi un certificat de participare.

Programul va include instruirea teoretică la clasă şi on-line, cuprinzând prelegeri, prezentări audio/video şi literatură, pregătire practică, lucru pe studii de caz, cu accent pe munca în echipă, interacţiune şi schimb de cunoştinţe între lectori şi colegi din alte instituţii, precum şi aplicarea cunoştinţelor teoretice şi practice dobândite.

SESIUNEA I - Introducere în gestiunea colecţiilor

Program: de luni până vineri, 18-29 iulie 2016; 10:00-16:00

SESIUNEA II - Lucrul cu obiectele

Program: de luni până vineri, 12-23 septembrie 2016; 10:00-16:00

SESIUNEA III - Studii avansate în gestiunea colecţiilor

Program: de luni până vineri, 14-25 noiembrie 2016; 10:00-16:00

Termen limită de înscriere: 8 iulie 2016

Mai multe informaţii: http://www.istrian.org

4TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON WATER & SOCIETY
5-7 JUNE 2017, SEVILLE, SPAIN

A 4-A CONFERINŢĂ INTERNAŢIONALĂ PRIVIND APA ŞI SOCIETATEA
5-7 IUNIE 2017, SEVILIA, SPANIA

Over the centuries, civilisations have relied on the availability of clean and inexpensive water. This can no longer be taken for granted as the need for water continues to increase due to the pressure from growing global population demanding higher living standards. Agriculture and industry, major users of water, are at the same time those that contribute to its contamination. Water distribution networks in urban areas, as well as soiled water collection systems, present serious problems in response to a growing population as well as the need to maintain ageing infrastructures.

This meeting will encourage trans-disciplinary communication on issues related to the nature of water, and its use and exploitation by society. The conference is motivated by the need to bridge the gap between the broad spectrum of social political sciences and humanistic disciplines and specialists in physical sciences, biology, environmental sciences and health, among others.

Conference Topics:

- Water resources management
- Water as a human right
- Water quality
- Water resources contamination
- Water, sanitation and health
- Water and disaster management
- Policy and legislation
- Future water demands
- Irrigation management
- Water management
- Urban water management
- Management of catchments
- Groundwater management and conservation
- Agribusiness

More information: https://www.wessex.ac.uk

De-a lungul secolelor, civilizaţiile s-au bazat pe disponibilitatea apei curate şi ieftine. Acest lucru nu mai poate fi trecut cu vederea, întrucât nevoia de apă continuă să crească din cauza presiunii din partea populaţiei din ce în ce mai numeroase la nivel mondial care cere standarde de viaţă mai ridicate. Agricultura şi industria, principalii utilizatori de apă, sunt în acelaşi timp cele care contribuie la contaminarea acesteia. Reţelele de distribuţie a apei în zonele urbane, precum şi sistemele de colectare a apei murdare prezintă probleme serioase, ca răspuns la o populaţie în creştere, precum şi la necesitatea de a menţine infrastructurile învechite.

Această reuniune va încuraja comunicarea trans-disciplinară cu privire la aspectele legate de natura apei, precum şi utilizarea şi exploatarea acesteia de către societate. Conferinţa este motivată de necesitatea de a elimina decalajul dintre spectrul larg al ştiinţelor politice, sociale şi umaniste şi specialiştii în ştiinţe fizice, biologie, ştiinţele mediului şi sănătate, printre altele.

Subiectele conferinţei:

- Gestionarea resurselor de apă
- Apa ca un drept al omului
- Calitatea apei
- Contaminarea resurselor de apă
- Apă, salubritate şi sănătate
- Apa şi gestionarea dezastrelor
- Politici şi legislaţie
- Cereri de apă viitoare
- Gestionarea irigaţiilor
- Gestionarea apei
- Gestionarea apelor urbane
- Gestionarea captărilor
- Gestionarea şi conservarea apei subterane
- Agrobusiness

Mai multe informaţii: https://www.wessex.ac.uk

3RD INTERNATIONAL CONFERENCE ON MECHANICS OF COMPOSITES (MECHCOMP3)
4-7 JULY 2017, BOLOGNA, ITALY

A 3-A CONFERINŢĂ INTERNAŢIONALĂ A MECANICII COMPOZITELOR (MECHCOMP3)
4-7 IULIE 2017, BOLOGNA, ITALIA

The 3rd edition of the International Conference on Mechanics of Composites will be held on 4-7 July 2017 at the School of Engineering and Architecture, University of Bologna, Italy.

Conference topics include: composite structures in civil engineering, dynamics of composite materials, micromechanics, electro-thermal properties of composite materials, impact problems, optimization techniques and methods, damage in composite structures and many more.

Deadline for submission of abstracts: 28th of February, 2017.

More information:
https://events.unibo.it/mechcomp3

Cea de-a 3-a ediţie a Conferinţei Internaţionale a Mecanicii Compozitelor va avea loc în perioada 4-7 iulie 2017 la Şcoala de Inginerie şi Arhitectură, Universitatea din Bologna, Italia.

Printre tematicile conferinţei se numără: structurile compozite în ingineria civilă, dinamica materialelor compozite, micromecanică, proprietăţile electro-termice ale materialelor compozite, probleme legate de impact, tehnici şi metode de optimizare, deteriorarea structurilor compozite şi multe altele.

Termenul-limită pentru trimiterea rezumatelor: 28 februarie 2017.

Mai multe informaţii:
https://events.unibo.it/mechcomp3

20TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON COMPOSITE STRUCTURES (ICCS20)
4-7 SEPTEMBER 2017, PARIS, FRANCE

A 20-A CONFERINŢĂ INTERNAŢIONALĂ A STRUCTURILOR COMPOZITE (ICCS20)
4-7 SEPTEMBRIE 2017, PARIS, FRANŢA

The 20th edition of the International Conference on Composite Structures will be held on 4-7 September 2017 at the Conservatoire National des Arts et Métiers, in Paris, France.

Conference topics include: composite structures, novel composite architectures, composites in innovative applications, durability of composite materials, porous and cellular materials, multiscale analysis of natural fibre composites, modelling of nano composites, smart composites and many more.

Deadline for submission of abstracts: 31st of March, 2017.

More information: https://events.unibo.it/iccs20

Cea de-a 20-a ediţie a Conferinţei Internaţionale a Structurilor Compozite va avea loc în perioada 4-7 septembrie 2017 la Conservatorul Naţional al Artelor şi Meseriilor, Paris, Franţa.

Printre tematicile conferinţei se numără: structurile compozite, noi arhitecturi compozite, aplicaţii inovatoare ale compozitelor, durabilitatea materialelor compozite, materiale poroase şi celulare, analiza multi-scară a compozitelor din fibre naturale, modelarea nanocompozitelor, compozite inteligente şi multe altele.

Termenul-limită pentru trimiterea rezumatelor: 31 martie 2017.

Mai multe informaţii: https://events.unibo.it/iccs20

INFORMAȚII UTILE

PHYSICAL-MECHANICAL TESTS AND CHEMICAL ANALYSES LABORATORY
LABORATORUL DE ÎNCERCĂRI FIZICO-MECANICE ŞI ANALIZE CHIMICE

within INCDTP – Division Leather and Footwear Research Institute carries out the following types of physical-mechanical tests and chemical analyses accredited by RENAR:
din cadrul INCDTP – Sucursala Institutul de Cercetări Pielărie – Încălţăminte realizează următoarele tipuri de încercări fizico-mecanice şi analize chimice acreditate RENAR:

GRAVIMETRIC METHODS – PHYSICAL-MECHANICAL TESTS LABORATORY
METODE GRAVIMETRICE – LABORATOR ÎNCERCĂRI FIZICO-MECANICE

Determining water permeability – finished leathers
Determinarea permeabilităţii la apă – piei finite
Determining permeability, absorption and desorption of water vapors – finished leathers
Determinarea permeabilităţii, absorbţiei şi desorbţiei vaporilor de apă – piei finite
Determining density – rubber soles and footwear; rubber ingredients
Determinarea densităţii – tălpi şi încălţăminte de cauciuc; ingrediente de cauciuc
Determining shoe upper behavior in water under dynamic conditions – leathers for shoe uppers
Determinarea comportării la apă în condiţii dinamice a feţelor de încălţăminte – piei pentru feţe de încălţăminte
Determining protection footwear soles behavior upon immersion in liquid environments – rubber soles, TR, PVC
Determinarea comportării la imersie în medii lichide a tălpilor pentru încălţămintea de protecţie – tălpi cauciuc, TR, PVC

METHODS FOR SPECIFIC DEFORMATIONS
METODE PENTRU DEFORMATII SPECIFICE

Determining tensile strength and elongation – finished leathers
Determinarea rezistentei la tractiune si a alungirii – piei finite
Determining tear strength – finished leathers
Determinarea rezistentei la sfâsiere – piei finite
Determining tensile strength and elongation – rubber
Determinarea rezistentei la tractiune si a alungirii – cauciuc
Determining dye resistance to friction – finished leathers
Determinarea rezistentei vopsirii la frecare – piei finite
Determining resistance to repeated bending – finished leathers
Determinarea rezistentei la flexiuni repetate – piei finite
Determining resistance to repeated bending – rubber soles and shoe uppers
Determinarea rezistenţei la flexiuni repetate – tălpi şi feţe de încălţăminte din cauciuc
Determining resistance to repeated bending – entire sole
Determinarea rezistentei la flexiuni repetate – talpa întreaga
Determining ShoreA hardness – rubber soles and footwear
Determinarea durităţii ShoreA – tălpi şi încălţăminte din cauciuc
Determining abrasion resistance – materials for shoe uppers, insertions and insoles
Determinarea rezistenţei la abraziune – materiale pentru feţe încălţăminte, căptuşeli şi branţuri

METHODS FOR RHEOLOGIC CHARACTERISTICS (VISCOSITY)
METODE PENTRU CARACTERISTICI REOLOGICE (VISCOZITATE)

Ingredients for rubber
Ingrediente pentru cauciuc
Adhesives for footwear
Adezivi pentru încălţăminte

METHODS FOR DETERMINING CONSTRUCTIVE CHARACTERISTICS OF FOOTWEAR
METODE PENTRU DETERMINAREA CARACTERISTICILOR CONSTRUCTIVE ALE ÎNCALTAMINTEI

Determining adhesion capacity – adhesives for footwear
Determinarea capacităţii de lipire – adezivi pentru încălţăminte
Determining sole attachment resistance – on whole shoes; on samples
Determinarea rezistenţei fixării tălpii – pe încălţăminte întreagă; pe epruvete
Determining uppers seams resistance – footwear
Determinarea rezistenţei cusăturilor feţelor – încălţăminte

ELECTROCHEMICAL METHODS
METODE ELECTROCHIMICE

Determining pH value and difference number of aqueous extract – finished leathers; auxiliary materials for the leather industry; rubber ingredients
Determinarea valorii pH si a cifrei de diferenta a extractului apos – piei finite; materiale auxiliare pentru industria de pielarie; ingrediente cauciuc

GRAVIMETRIC METHODS – CHEMICAL ANALYSES LABORATORY
METODE GRAVIMETRICE – LABORATOR ANALIZE CHIMICE

Determining solvent extractable substances – Finished leathers and collagen-based products; Hard rubber
Determinarea substantelor extractibile cu solventi – piei finite si produse colagenice; cauciuc vulcanizat
Determining water solluble substances – Finished leathers
Determinarea substantelor solubile în apa – Piei finite
Determining tanning substances – Synthetic and vegetable tans
Determinarea substantelor tanante – Tananti sintetici si vegetali
Determining fat substances content – Sulphated oils
Determinarea continutului în substante grase – Uleiuri sulfatate
Determining ash – Finished leathers and collagen-based products; Rubber soles and footwear; Rubber ingredients; Auxiliary materials in the leather industry
Determinarea cenusii – Piei finite si produse colagenice; Talpi si încaltaminte de cauciuc; Ingrediente de cauciuc; Materiale auxiliare din industria de pielarie
Determining humidity and volatile matter content – Finished leathers and collagen-based products; Rubber soles and footwear; Rubber ingredients; Auxiliary materials in the leather industry
Determinarea umiditatii si a continutului de materii volatile – Piei finite si produse colagenice; Talpi si încaltaminte de cauciuc; Ingrediente de cauciuc; Materiale auxiliare din industria de pielarie
Determining dry substance content – Auxiliary materials for the leather industry; Rubber ingredients; Adhesives for footwear
Determinarea continutului de substanta uscata – Materiale auxiliare pentru industria de pielarie; Ingrediente cauciuc; Adezivi pentru încaltaminte
Determining sulphur – Hard rubber; Determining silicic-acid anhydride; Rubber blends, rubber soles, rubber shoe uppers
Determinarea sulfului – Cauciuc vulcanizat; Determinarea bioxidului de siliciu; Amestecuri de cauciuc, talpi de cauciuc, fete de încaltaminte de cauciuc
Determining outstanding total matter content – Used waters in the leather industry
Determinarea continutului de materii totale în suspensie – Ape uzate din industria de pielarie

VOLUMETRIC METHODS
METODE VOLUMETRICE

Determining chromic oxide and trivalent chrome – Finished leathers; Auxiliary materials for the leather industry
Determinarea oxidului de crom şi a cromului trivalent – Piei finite; Materiale auxiliare pentru industria de pielărie
Determining total nitrogen content and dermal substance – Finished leathers and collagen-based products
Determinarea conţinutului de azot total şi a substanţei dermice – Piei finite şi produse colagenice
Determining chemical oxygen demand COD – Used waters in the leather industry
Determinarea consumului chimic de oxigen CCO – Ape uzate din industria de pielărie
Determining mineral ether extractable substances content - Used waters in the leather industry
Determinarea conţinutului de substanţe extractibile cu eter de petrol – Ape uzate din industria de pielărie

GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY
CROMATOGRAFIE ÎN FAZA LICHIDA ŞI GAZOASA

Determining certain azo dyes by high performance chromatography – Finished leathers
Determinarea anumitor coloranti azoici prin cromatografie de înalta performanta – Piei finite
Determining pentachlorophenol content – Finished leathers
Determinarea continutului de pentaclorfenol – Piei finite
Determining formaldehyde content – Finished leathers
Determinarea continutului de formaldehida – Piei finite

SPECTROMETRIC (INFRARED) METHODS
METODE SPECTROMETRICE (INFRAROSU)

Identifying PVC by infrared spectrometry – Footwear soles
Identificarea PVC prin spectrometrie în infrarosu – Talpi încaltaminte

Physical-mechanical tests and chemical analyses not accredited by RENAR:
Încercări fizico-mecanice şi analize chimice neacreditate RENAR:

SPECTROMETRIC (UV-VIS) METHODS
METODE SPECTROMETRICE (UV-VIS)

Determining acid ions and organic substances in water: determining nitrites, azotates, total cyanides, acid ion surface agents, non-ionic surface agents, phenyl index, fluorine, phosphates, sulphates, sulphides
Determinarea ionilor acizi si a substantelor organice din apa: determinarea nitritilor, azotatilor, cianurile totale, agenti de suprafata ioni acizi, agenti de suprafata neionici, indicele de fenil, fluor, fosfati, sulfati; sulfuri
Determining basic ions and organic substances in water: arsenic, aluminum, chrome VI, mercury, ammonium
Determinarea ionilor bazici si a substantelor organice din apa: arsenic, aluminiu, crom VI, mercur, amoniu

VOLUMETRIC METHODS
METODE VOLUMETRICE

Determining calcium oxide; Determining magnesium oxide; Determining iron trioxide; Determining aluminum trioxide – Rubber blends, rubber soles, rubber shoe uppers
Determinarea oxidului de calciu; Determinarea oxidului de magneziu; Determinarea trioxidului de fier; Determinarea trioxidului de aluminiu – Amestecuri de cauciuc, tălpi de cauciuc, feţe de încălţăminte de cauciuc
Identifying elastomers in rubber blends – Vulcanized and unvulcanized rubber blends, Rubber soles and shoe uppers
Identificarea elastomerilor din amestecurile de cauciuc – Amestecuri de cauciuc vulcanizate şi nevulcanizate, tălpi şi feţe de încălţăminte din cauciuc

LEATHER TESTS
ÎNCERCARI PENTRU PIELE

Determining water absorption under static conditions – Finished leathers
Determinarea absorbţiei de apă în condiţii statice – Piei finite
Determining apparent density – Finished leathers
Determinarea densităţii aparente – Piei finite
Determining bend resistance of upper and cracking index – Finished leathers
Determinarea rezistenţei la îndoire a feţei şi a indicelui de crăpare – Piei finite
Bend test – Finished leathers
Încercarea la îndoire – Piei finite
Contraction index – Leathers and furs to be processed and finished leathers and furs
Indice de contracţie – Piei şi blănuri în curs de prelucrare şi piei şi blănuri finite
Dye resistance to sweat – Finished leathers
Rezistenţa vopsirii la transpiraţie – Piei finite
Determining softness – Finished leathers
Determinarea moliciunii – Piei finite
Water absorption and desorption - Footwear. Insoles, insole covers
Absorbţia şi desorbţia apei – Încălţăminte, branţuri, acoperişuri de branţ
Tensile strength – Synthetic leathers
Rezistenţa la tracţiune – Piei sintetice
Tear resistance – Finished leathers
Rezistenţa la sfâşiere – Piei finite
Wool pulling resistance – Finished leathers with fur
Rezistenţa la smulgere a lânii – Piei finite cu blană

RUBBER TESTS
ÎNCERCĂRI PENTRU CAUCIUC

Determining elasticity – hard rubber
Determinarea elasticitatii – cauciuc vulcanizat
Determining tear resistance – hard rubber
Determinarea rezistentei la sfâsiere – cauciuc vulcanizat
Residual deformation from compression – hard or thermoplastic rubber; cellular polymeric materials
Deformarea remanentă la compresie – cauciuc vulcanizat sau termoplastic; materiale polimerice celulare
Compression resistance – Flexible cellular materials
Rezistenţa la compresie – materiale celulare flexibile
Linear contraction - Flexible cellular materials
Contracţia liniară – materiale celulare flexibile
Determining adherence to textiles – Hard rubber
Determinarea aderenţei la textile – cauciuc vulcanizat
Determining repeated bending resistance (De Mattia) – hard or thermoplastic rubber
Determinarea rezistenţei la flexiuni repetate (De Mattia) – cauciuc vulcanizat sau termoplastic
Determining accelerated ageing resistance – hard or thermoplastic rubber
Determinarea rezistenţei la îmbătrânire accelerată – cauciuc vulcanizat sau termoplastic
Low temperature bend testing – hard or thermoplastic rubber
Încercarea la îndoire la temperatură scăzută – cauciuc vulcanizat sau termoplastic
Low temperature bend testing – plastic materials
Încercarea la îndoire la temperatură scăzută – materiale plastice
Determining mass – covered textile bases
Determinarea masei – suporturi textile acoperite
Determining adherence of covering layer – covered textile bases
Determinarea aderenţei stratului de acoperire – suporturi textile acoperite
Determining repeated bending resistance – covered textile bases
Determinarea rezistenţei la flexiuni repetate – suporturi textile acoperite

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Presentation of papers

The scientific papers should be presented for publishing in Romanian and English by the Romanian authors, and in English by the foreign authors.

The text of the article should be clear and precise, as short as possible to make it understandable. As a rule, the paper should not contain more than fifteen pages, including figures, drawings and tables. The paper should be divided into heads and chapters in a logical sequence. Decimal classification is recommended. Manuscripts must meet high scientific and technical standards. All manuscripts must be typewritten using MS Office facilities, single spaced on white A4 standard paper (210 x 297 mm) in 11-point Times New Roman (TNR) font. Please note that the content of the articles is the sole responsibility of the authors.

Format. Title. Title (Centered, **12 pt.TNR** font) should be short and informative. It should describe the contents fully but concisely without the use of abbreviations.

Authors. The complete, unabbreviated names should be given (Centered, font TNR 10), along with the affiliation (institution), city, country and email address (Centered, **9 pt.TNR** font). The author to whom the correspondence should be addressed should be indicated, as well as email and full postal address.

Abstract: A brief abstract of no more than 200-250 words must accompany each manuscript (**8 pt. TNR** font). The abstract should describe the content and results of the paper.

Keywords. Authors should give 3-5 keywords.

Text. Introduction. Should include the aims of the study and results from previous notable studies.

Materials and Methods. Experimental methods should be described clearly and briefly.

Results and Discussions. This section may be separated into two parts. Unnecessary repetition should be avoided.

Conclusions. The general results of the research are discussed in this section.

Acknowledgements. Should be as short as possible.

References. Must be numbered in the paper, and listed in the order in which they appear.

***Diagrams,* Figures and Photographs** should be constructed so as to be easy to understand and should be named "Figures"; their titles should be given below the Figure itself. The figures should be placed immediately near (after or before) the reference that is being made to them in the text. Figures should be referred to by numbers, and not by the expressions „below" or „above". The number of figures should be kept to minimum (maximum 10 figures per paper).

Tables. Should be numbered consecutively throughout the paper. Their titles must be centered at the top of the tables (**12 pt. TNR** font). The tables text should be 9 **pt. TNR** font. Their dimensions should correspond to the format of the Journal page. Tables will hold only the horizontal lines defining the row heading and the final table line. The tables should be placed immediately near (after or before) the reference that is being made to them in the text. Tables should be referred to by numbers, and not by the expressions „below" or „above". The measure units (expressed in International Measuring Systems) must be explicitly presented.

Formulas, Equations and Chemical Reactions should be numbered by Arabic numbers in round brackets, in order of appearance, and should be centered. The literal part of formulas should be in Italics. Formulas should be referred to by Arabic numbers in round brackets.

Nomenclature. Should be adequate and consistent throughout the paper, should conform as much as possible to the rules for Chemistry nomenclature. It is preferable to use the name of the substances instead of the chemical formulas in the text.

References should be numbered consecutively throughout the paper in order of citation in square brackets; the references should list recent literature also. Footnotes are not allowed. If the cited literature is in other language than English, the English translation of the title should be provided, followed by the original language in round brackets. Example: Handbook of Chemical Engineer (in Romanian), vol. 2, Technical Press, Bucharest, **1951**, 87.

Citation of journal articles: all authors' names (surname, name initials), *abbreviated journal title*, article title,**year**, volume number, issue number, full page reference. Ex: Helissey, P., Giorgi–Renault, S., Renault J., *Chem. Pharm. Bull.,* **1989**, **37**, 9, 2413-2425.

In case the reference is not cited in original, the author(s) should also list the original paper that has been consulted.

Citation of texts from books: *authors' full name and name (initials)*, title of the book, issue number in Arabic numbers, publishing house, editors name (if present), city where the book has been published, **year of publication,** the page(s) containing the text that has been cited.

Citation of patents: all authors' names (surname, name initials), or company's name, country and patent number, **date of issuance.**

Manuscripts should be submitted in electronic format by email to the following address:

Dr. Viorica DESELNICU, *Editor-in-chief*
INCDTP - Leather and Footwear Research Institute (ICPI)
93 Ion Minulescu Street, code 030215, Bucharest, Romania
Phone: +4021-323.50.60; Fax: +4021-323.52.80.
E-mail: jlfjournal@gmail.com

INSTRUCŢIUNI PENTRU AUTORI

Prezentarea lucrărilor

Lucrările ştiinţifice se vor prezenta redacţiei spre publicare în limba română şi în limba engleză de către autorii români, şi în limba engleză de către autorii străini.

Conţinutul lucrării trebuie să fie clar şi cât mai concis posibil. Articolele nu vor depăşi 15 pagini, inclusiv figurile şi tabelele. Lucrarea va fi împărţită în paragrafe şi capitole într-o succesiune logică. Este recomandată clasificarea zecimală. Articolele vor întruni un înalt standard ştiinţific şi tehnic. Toate manuscrisele vor fi editate utilizând facilităţile MS Office (Word '97 sau ulterioare) pe hârtie albă A4 standard (210 x 297 mm) cu font Times New Roman (TNR) 11, spaţiere la un rând. Conţinutul articolelor este responsabilitatea autorilor.

Formatul lucrărilor. Titlu. Titlul trebuie să descrie concis conţinutul lucrării fără a folosi abrevieri. Titlul va fi centrat, font TNR 12.

Autori. Se preferă numele complet al autorilor (Centrat, font TNR 10), împreună cu afilierea (instituţia), oraşul, ţara şi adresa de email (Centrat, font TNR 9). Se va indica autorul pentru corespondenţă cu adresa completă.

Rezumat: Un rezumat de 200-250 cuvinte va însoţi lucrarea (font TNR 8). Rezumatul trebuie să descrie conţinutul lucrării şi rezultatele obţinute.

Cuvinte cheie. Se vor prezenta 3-5 cuvinte cheie.

Textul lucrărilor. Introducere. Va include obiectivele studiului şi rezultatele studiilor relevante anterioare.

Materiale şi Metode. Metodele experimentale vor fi descrise clar şi pe scurt.

Rezultate şi Discuţii. Această secţiune poate fi separată în două părţi. Se vor evita repetiţiile care nu sunt necesare.

Concluzii. În această secţiune vor fi discutate rezultatele generale ale cercetării.

Mulţumiri. Vor fi cât mai scurte posibil.

Bibliografie. Referinţele bibliografice vor fi numerotate în lucrare şi listate în ordinea în care apar în text.

***Diagrame,* figuri şi fotografii.** Vor fi construite în aşa fel încât să fie uşor de înţeles şi vor fi denumite „Figuri"; denumirea lor va fi dată sub figura propriu-zisă. Ele vor fi plasate imediat lângă (înainte sau după) referirea care se face la ele în text. Referirile la figuri se vor face prin numere, nu prin cuvintele „mai sus" sau „mai jos". Numărul figurilor să fie cel strict necesar (maxim 10).

Tabele. Vor fi numerotate în continuare cu cifre arabe. Fiecare va avea un titlu, centrat deasupra tabelului (TNR 11). Textul tabelului va respecta fontul TNR 9. Dimensiunile tabelelor trebuie să corespundă formatului revistei. Tabelele vor prezenta numai liniile orizontale ce delimitează capul de tabel şi sfârşitul tabelului. Tabelele vor fi plasate imediat lângă (înainte sau după) referirea care se face la ele în text. Referirile la tabele se vor face prin numere, nu prin cuvintele „mai sus" sau „mai jos". Unităţile de măsură folosite (exprimate în Sistem Internaţional) trebuie prezentate explicit.

Formule, ecuaţii şi reacţii chimice. Vor fi numerotate cu cifre arabe, în paranteză mică în ordinea apariţiei, şi vor fi plasate centrat. Partea literală a formulelor trebuie să fie scrisă cu caractere italice. Referirile din text la formule se pot face prin numere arabe scrise între paranteze rotunde.

Nomenclatură. Trebuie să fie corespunzătoare şi univocă, să se conformeze pe cât posibil regulilor pentru nomenclatura în chimie, iar în text este preferabil să se folosească numele substanţelor în loc de formule chimice.

Referinţe bibliografice. Vor fi numerotate în continuare, în ordinea citării, şi notate în text prin cifre corespunzătoare, în paranteze pătrate; bibliografia va conţine şi lucrări recent publicate. Nu este permisă folosirea notelor de subsol. Dacă lucrările citate sunt în altă limbă decât limba engleză, se va oferi titlul în limba engleză, urmat de precizarea limbii originale în paranteză rotundă. Exemplu: Handbook of Chemical Engineer (in Romanian), vol. 2, Technical Press, Bucharest, **1951**, 87.

Citarea articolelor din reviste: numele tuturor autorilor (nume, iniţiale prenume), titlul articolului, *titlul abreviat al periodicului*, **anul apariţiei**, numărul volumului, numărul ediţiei, paginile de început şi sfârşit ale articolului. Ex: Helissey, P., Giorgi–Renault, S., Renault J., *Chem. Pharm. Bull.,* **1989**, **37**, 9, 2413-2425.

În cazul în care referinţa nu a fost citată în original, se va indica după ea şi lucrarea care a fost consultată.

Citarea textelor din cărţi: numele şi prenumele (iniţiala) autorilor, titlul cărţii, numărul ediţiei în cifre arabe, editura, numele editorilor (dacă este cazul), localitatea, **anul apariţiei,** pagina (sau paginile) la care se face referirea.

Citarea brevetelor: numele tuturor autorilor (nume, iniţiale prenume), sau firmei, ţara şi numărul brevetului, **data.**

Manuscrisele se vor preda în format electronic la următoarea adresă, prin email:

Dr. Viorica DESELNICU *Editor şef*

INCDTP – Sucursala Institutul de Cercetare Pielărie – Încălţăminte (ICPI)

Str. Ion Minulescu nr. **93**., cod 030215, Bucureşti, România, Tel: +4021-323.50.60, Fax: +4021-323.52.80, E-mail: jlfjournal@gmail.com

INCDTP - SUCURSALA INSTITUTUL DE CERCETĂRI PIELĂRIE ÎNCĂLȚĂMINTE

ISSN 1583-4433

LUCRARE EDITATĂ CU SPRIJINUL AUTORITĂȚII NAȚIONALE PENTRU CERCETARE ȘTIINȚIFICĂ ȘI INOVARE