

# Analiza vegetabilno štavljene kože nakon obrade plazmom i hitozanom na postojanost boje i antimikrobno djelovanje

## Analysis of vegetable tanned leather after treatment with plasma and chitosan for color fastness and antimicrobial activity

Znanstveni rad / Scientific paper

Sanja Ercegović Ražić<sup>1\*</sup>, Ana Sutlović<sup>1</sup>, Tomislav Ivanković<sup>2</sup>, Jadranka Akalović<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Zagrebu Tekstilno-tehnološki fakultet, Prilaz baruna Filipovića 28a, 10 000 Zagreb

<sup>2</sup>Prirodoslovno matematički fakultet, Biološki odsjek; Roosveltov trg 6, 10 000 Zagreb

\*Korespondencija: sanja.ercegovic@tff.unizg.hr

### Sažetak

Kako bi se utvrdila promjena obojenja odn. postojanost obojenja, uzorak vegetabilno štavljene kože podvrgnut je močenju u alkalnoj otopini znoja kako bi se izlučio višak tanina i drugih netaninskih tvari koje zbog svoje velike količine unutar strukture kože imaju snažan antimikrobni učinak, te u tom slučaju naknadna obrada nije potrebna. Remisijskim spektrofotometrom uzorci kože snimljeni su prije i nakon procesa močenja kako bi se utvrdila promjena obojenja objektivnim mjerenjem kolorističkih parametara boje i ukupne razlike u boji. Učinkovitost obrada ekološki prihvatljivom plazmom i biopolimerom hitozanom potvrđena je kod nekih uzoraka kože mikrobiološkim analizama spram dvije bakterijske vrste *Staphylococcus aureus* i *Klebsiella pneumoniae*, provedbom kvalitativnog testa difuzije.

**Ključne riječi:** vegetabilno štavljenje; koža; plazma; hitozan; postojanost obojenja; mikrobiološka analiza.

### Abstract

To determine color change or color fastness, a sample of vegetable-tanned leather is subjected to soaking in an alkaline sweat solution to remove excess tannin and other non-tannins, which have a strong antimicrobial effect due to their large amount in the structure of the leather and make post-treatment unnecessary. Before and after the wetting process, the samples were analyzed with a remission spectrophotometer to determine the color change by objectively measuring the color parameters of the dye and the total color difference. The efficacy of treatment with environmental friendly plasma and biopolymer chitosan was confirmed in some samples by microbiological analysis against two bacterial species - *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* - using a qualitative diffusion test.

**Keywords:** vegetable tanning; leather; plasma; chitosan; color fastness; microbiological analysis.

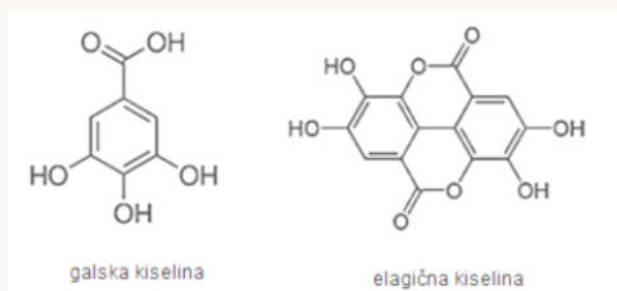
## 1. Uvod

Jedna od najvažnijih operacija tijekom procesa prerade kože je proces štavljenja, koji poboljšava trajnost kože te sprječava njeno truljenje. Sredstva koja se koriste nazivaju se štavila i reagiraju s molekulom kolagena stabilizirajući trostruku spiralnu strukturu jezgre kolagena, čime se postiže otpor kože prema kemijskoj, toplinskoj i mikrobiološkoj razgradnji [1].

Uobičajeno je da se kao štavila koriste anorganski spojevi kao što su krom, aluminij, željezo, titan te organski spojevi kao što su aldehidi te vegetabilni tanini, sintani i kombinacije navedenih spojeva [1]. Štavila trebaju imati afinitet i sposobnost reakcije s kolagenom te imati određenu veličinu radi prodiranja u kolagenska vlakna čime se postiže željeno umrežavanje strukture [2]. Može se zaključiti da procesom štavljenja dolazi do učvršćivanja kolagenskih vlakana te cjelokupnog tkiva usmine ireverzibilnim vezanjem sredstva za štavljenje na polipeptidne lance između kolagenskih fibrila, čime se umrežava vlaknasta struktura kože [3].

Biljke sadrže polifenole koji se koriste za proces štavljenja. Takva se štavila nazivaju tanini, a da bi bili učinkoviti, njihova molekularna masa mora biti između 500 i 3000. Njihova štavna moć ovisi o sadržaju fenolnih oks-skupina jer umrežavaju kolagenska vlakna tako da se povezuju s njegovim amino-skupinama pomoću vodikovih veza. Tanini se nalaze u gotovo svim biljkama i u svim njihovim dijelovima, lišću, kori, plodovima, korijenu. Tanini se dobivaju ekstrakcijom iz različitih biljaka, a učinkovitost ekstrakcije ovisi o vrsti biljke te o tipu upotrijebljenog otapala ili aditiva dodanih u otapalo. Ekstrakcija se provodi uz pomoć vode kao otapala, a kod industrijske ekstrakcije se u vodu dodaju natrijev sulfit ili bisulfit te natrijev bikarbonat. Nakon toga otopina tanina se koncentrira i suši, pri čemu se dobije tanin u obliku praha [6]. Tanini se vežu za proteine kolagena te ih naslojavaju, čime oni postaju slabije vodotopivi te otporniji na bakterije [4].

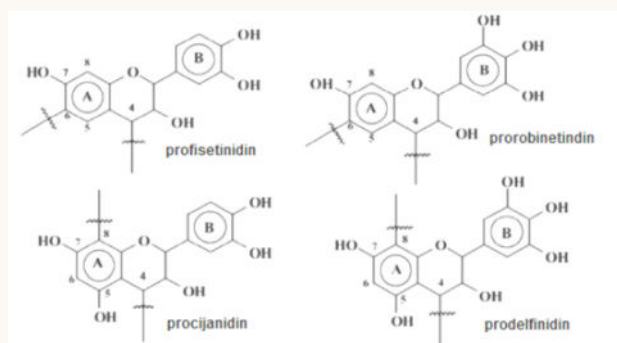
Klasificiraju se u sljedeće skupine: hidrolizirajući ili pirogalolni te pirokateinski ili kondenzirani [3, 5]. Hidrolizirani tanini su smjese jednostavnih fenola, kao što su elagična i galska kiselina (slika 1.) [6].



Slika 1. Prikaz hidrolizirajuće molekule tanina [6]

Ova vrsta tanina doprinosi intenzivnom obojenju, čistići obojenja te otpornosti na svjetlost. Oni se ponašaju i kao antimikrobne i antivirusne tvari. Zbog prisustva mnogobrojnih hidroksilnih skupina, visoko su reaktivni kao vegetabilna štavila [5].

Kondenzirani tanini čine više od 90% svjetske proizvodnje tanina. Glavne ponavljajuće jedinice ove vrste tanina su katehin i epikatehin, prodefinidi, profisetinidini i prorobinetidini (slika 2.) [6].



Slika 2. Glavne strukture kondenziranih tanina [6]

Kod kondenziranih tanina ne dolazi do hidrolize, već mogu stvarati talog koji se naziva flobafen. Ovi tanini uočljivo pocrvene kada su izloženi svjetlu, što se događa zbog njihove vezane prstenaste strukture, zbog koje podliježu oksidativnom umrežavanju. Kondenzirani tanini povećavaju temperaturu mežuranja kolagena na 80 - 85 °C [5].

Svi tanini reagiraju svojim fenolnim skupinama s amino skupinama kolagena stvaranjem vodikovih veza na peptidnim vezama kolagena. Poznato je da se polifenoli vežu za amino i karboksilne kiselinske skupine na bočnim lancima, ovisno o pH. Reakcija tanina s kolagenom rezultira stabilnijom strukturom kože [5, 6].

## 2. Eksperimentalni dio

### 2.1. Karakterizacija vegetabilnog uzorka kože

Ispitivanja su provedena na uzorku govede kože proizvedene od hrvatskog proizvođača kože PSUNJ d.d., iz Rešetara. Ispitivani uzorak je vegetabilno štavljena goveđa koža punog prirodnog lica, krute strukture smeđe boje, debljine u rasponu od 2,0 do 2,2 mm (tab.1.). Dimenzije uzorka na kojima su provedena ispitivanja su 100 x 100 mm. Boja uzorka potječe od upotrijebljenog sredstva za štavljenje – tanina.

Tablica 1. Opis uzorka kože korištenog u ispitivanju

Uzorak	Opis uzorka	Izgled površine
Vegetabilno štavljeno uzorak kože	Boja: smeđa Debljina: 2,0 – 2,2 mm Vrsta uzorka: vegetabilno štavljena goveđa koža punog prirodnog lica. Sredstvo za štavljenje: tanin	

### 2.2. Metode i postupci obrada kože

Istraživanja prikazana u ovom radu provedena su sa svrhom primjene ekološki prihvatljive predobrade hladnom kisikovom i argonovom plazmom na uzorcima govede kože namijenjenih za izradu obuće, dijelova obuće, ali i ostalih proizvoda od kože. Kako je manji broj objavljenih radova u području pred/obrada govede kože hladnom niskotlačnom plazmom, time je i interes za istraživanja u ovom području veći. Hladna niskotlačna plazma instalirana je na Sveučilištu u Zagrebu Tekstilno-tehnološkom fakultetu, u Laboratoriju za obradu plazmom (voditelj prof. dr. sc. S. Ercegović Ražić), osnovan 2008. godine [9].

Kako je dio istraživanja u području obrada kože bio vezan uz istraživanja provedena u okviru znanstvenog projekta financiranog od Hrvatske zaklade za znanost pod nazivom Udobnost i antimikrobna svojstva tekstila i obuće (voditelj prof. dr. sc. Z. Skenderi) završenog 31. 12. 2021. godine., saznanja dobivena ovim istraživanjem doprinijela su donošenju zaključaka o antimikrobnim i funkcionalnim (uporabnim) svojstvima kože nakon provedbe modifikacija površine i svojstava kože.

Predobrade plazmom na uzorcima govedih koža, provedene su u svrhu kemijske i fizikalne aktivacije površine radi postizanja učinkovite antimikrobne obrade ekološki povoljnim sredstvom hitozanom koji je nanesen na aktiviranu površinu kože metodom horizontalnog prskanja otopine hitozana [7, 8].

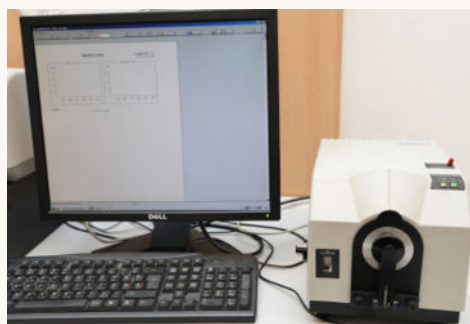
Kako bi se utvrdila promjena obojenja, uzorak vegetabilno štavljene kože podvrgnut je močenju u alkalnoj otopini znoja u svrhu izlučivanja viška tanina i drugih netaninskih tvari, a koje zbog velike količine zadržane unutar strukture kože pokazuju antimikrobni učinak. Remisijskim spektrofotometrom uzorci kože snimljeni su prije i nakon procesa močenja kako bi se utvrdila promjena obojenja objektivnim mjerenjem kolorističkih prametara boje i ukupne razlike u boji.

Učinkovitost pred/obrada plazmom i hitozanom provedena je mikrobiološkim analizama spram dvije bakterijske vrste *Staphylococcus aureus* i *Klebsiella pneumoniae*, provedbom kvalitativnog testa difuzije na Zavodu za mikrobiologiju, s Biološkog odsjeka PMF-a Sveučilišta u Zagrebu (izv. prof. dr. sc. T. Ivanković).

#### 2.2.1. Određivanje obojenosti uzorka kože nakon močenja

Vegetabilno štavljeno uzorak obrađen je u otopini alkalnog znoja kroz 15 h u sušioniku pri temperaturi od 37 °C. Tako obrađeni uzorak je podvrgnut predobradi s Ar plazmom i obrađen hitozanom metodom prskanja.

Korištenjem remisijskog spektrofotometra DataColor SP600 + CV UV (instaliran u Zavodu za tekstilnu kemiju i ekologiju) određene su razlike u obojenosti između uzoraka različitih pred/obrada u odnosu na neobrađeni uzorak kože. Remisijski spektrofotometar ima mjerno područje 360 - 700 nm. Instrument je opremljen integracijskom kuglom promjera 152 mm (mjerna glava instrumenta) koja osigurava geometriju osvjetljavanja mjernog uzorka d/8° (kut upadnog svjetla na mjereni uzorak). Izvor svjetlosti unutar instrumenta je ksenonska žarulja koja je opremljena dodatnim filtrima da bi omogućila simulaciju standardnog dnevnog svjetla oznake D65 uključujući i UV komponentu za mjerenje bjeline optički bijeljenog materijala (slika 3.).



Slika 3. Remisijski spektrofotometar DataColor SP600+ CV UV [11]

Uzorcima su spektrofotometrijski određeni koloristički parametri ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ,  $h^*$ ). Određena je ukupna razlika u boji  $\Delta E^*$  obrađenih uzoraka u odnosu na neobrađeni (izraz 1.)

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

Gdje je:

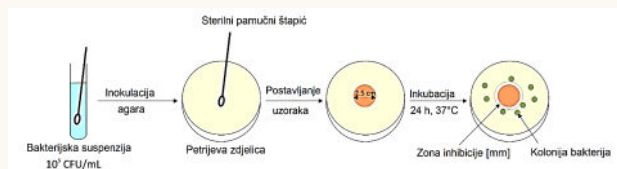
$\Delta L^*$  - razlika u svjetlini

$\Delta C^*$  - razlika u zasićenosti

$\Delta H^*$  - razlika u tonu

### 2.2.2. Antimikrobna učinkovitost kože

Antimikrobna učinkovitost kože primjenom kvalitativnog mikrobiološkog testa. Postupak ispitivanja antimikrobne učinkovitosti obrađenih uzoraka proveden je sukladno normi HRN EN ISO 20645:2008 [10]. Učinkovitost je ispitivana spram dvije vrste bakterija, gram-negativne *Klebsiella pneumoniae* i gram-pozitivne *Staphylococcus aureus*. Postupak ispitivanja antimikrobne učinkovitosti uzoraka prikazan je na slici 4.



Slika 4. Shematski prikaz postupka ispitivanja antimikrobne učinkovitosti uzoraka

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

$$H = \frac{D - d}{2} \quad (2)$$

Gdje je:

H – zona inhibicije u mm

D – ukupan promjer uzorka i zone inhibicije u mm

d – promjer uzorka u mm

Ocjena antimikrobnog učinka se daje prema kriterijima navedenim u tab. 2. Nakon što je izmjerena zona inhibicije, uzorak se uklanja s agara te se promatra površina pod mikroskopom sa povećanjem od 20x i donosi se konačna ocjena.

Tablica 2. Kriteriji određivanja antimikrobne učinkovitosti prema normi

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

<sup>1</sup> Rast bakterija u hranjivom mediju ispod uzorka

<sup>2</sup> Veličina zone inhibicije se treba djelomično uzeti u obzir; velika zona inhibicije može ukazivati na određenu količinu aktivnih tvari na površini uzorka ili slabo fiksiranje reagensa na supstrat

<sup>3</sup> Odsutnost rasta može biti znak dobrog učinka jer nastanak zone inhibicije može biti spriječen slabom difuzijom aktivne supstance

<sup>4</sup> Ograničen rast ukazuje na ograničenu učinkovitost

<sup>5</sup> Smanjena gustoća bakterijskog rasta može označavati broj kolonija ili promjer kolonija

## 3. Rezultati analize obojenosti uzoraka kože

### 3.1. Rezultati analize obojenosti uzorka kože nakon močenja

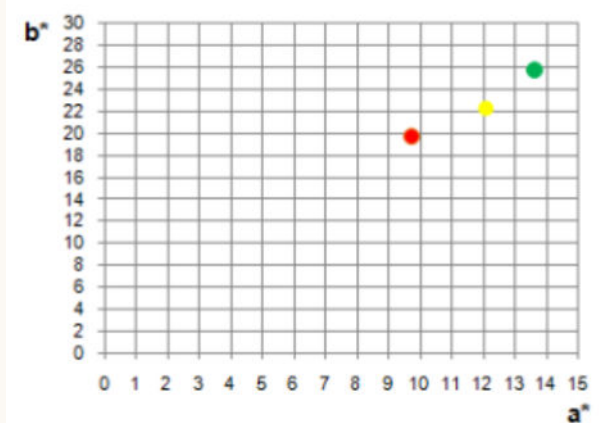
Remisijskim spektrofotometrom provedeno je mjerenje kolorističkih parametara obojenosti uzoraka prije i nakon procesa močenja, te uzorka nakon predobrade argonom plazmom i obrade hitozanom (Ar/CH), a rezultati su prikazani u tab. 3. i na grafičkom prikazu slici 5. Izračunata je ukupna promjena obojenja  $\Delta E$  i promjene koordinata boje, svjetline, zasićenosti i tona u odnosu na standard, a rezultati su prikazani u tab. 4. i na grafičkom prikazu slici 6.

Tablica 3. Koloristički parametri snimljenog vegetabilnog uzorka kože

Opis uzorka	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h^*$	X	Y	Z	x	y
Uzorak N	56,09	12,06	22,38	25,42	61,68	25,50	24,00	14,20	0,4004	0,3767
Uzorak M	55,56	13,68	25,66	29,08	61,94	25,36	23,48	12,52	0,4132	0,3827
Uzorak Ar/CH	60,03	9,77	19,67	21,96	63,58	29,15	28,16	18,55	0,3834	0,3711

Legenda: uzorak N - neobrađeni uzorak; Uzorak M - uzorak nakon procesa močenja; Uzorak Ar/CH - uzorak pred/obrađen s Ar plazmom i hitozanom.

zeleno - uzorak N; crveno - uzorak M; žuto - uzorak Ar/CH



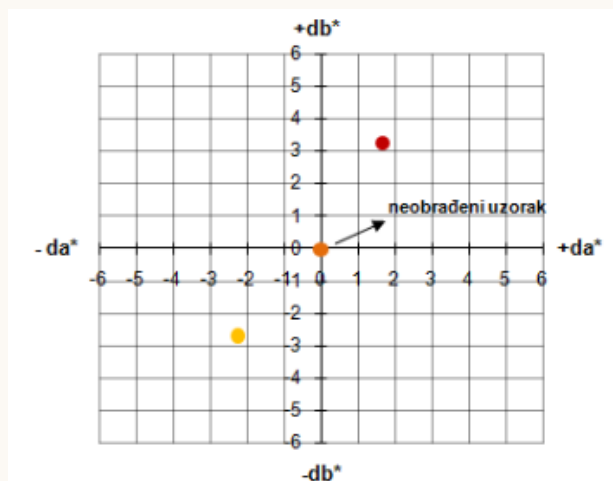
Oznaka: zeleno - uzorak N; crveno - uzorak M; žuto - uzorak Ar/CH

Slika 5. Prikaz koordinata boja ( $a^*/b^*$ ) uzoraka

Primjenom remisijskog spektrofotometra određeni su koloristički parametri boje vegetabilno štavljenog uzorka prije i nakon izlaganja (močenja) alkalnoj otopini znoja, a potom i obrađenog Ar plazmom i hitozanom. U tablici 4. su vidljive promjene svjetline ( $dL^*$ ) uzorka te je najintenzivnija promjena kod obrađenog uzorka nakon močenja. Štavljenje vegetabilnim štavilima uzorcima koža daje karakteristično smeđe obojenje uzorku, a s obzirom da se tanini kao i druge netaninske tvari dodaju u suvišku tijekom procesa štavljenja, oni pokazuju izrazitu antimikrobnu aktivnost. S obzirom na koordinate boja  $a^*/b^*$ , uzorci su smješteni između crvene koordinate  $a^*$  i žute koordinate  $b^*$ , što znači da su narančastog tona. Parametar kromatičnosti  $C^*$  govori o zasićenosti boje, koja je jasno vidljiva kod neobrađenog, ali močenog uzorka.

**Tablica 4.** Razlike u boji močenog uzorka i obrađenog uzorka u odnosu na uzorak prije močenja

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



**Slika 6.** Prikaz razlika u obojenjima obrađenih uzoraka naspram standarda u da\*/db\* dijagramu

Remisijskim spektrofotometrom određene su i razlike u obojenju močenog vegetabilno štavljenog uzorka prije i nakon obrade u odnosu na neobrađeni (nemoćeni) uzorak (sl. 6.). Parametar koji daje uvid u promjenu obojenja je ukupna razlika u boji DE\*, te se prema dobivenim vrijednostima primjećuju razlike u obojenjima uzorka prije i nakon močenja, a te su razlike najizraženije kod močenog predobrađenog uzorka (Ar/CH). Prema da\*/db\* dijagramu, neobrađeni moćeni uzorak je u odnosu na neobrađeni uzorak prije močenja tamniji, crveniji i žući, a moćeni i Ar/CH obrađeni uzorak je svjetliji s manje izraženim crvenim i žutim tonom, što je posljedica uklanjanja tanina koji daju specifičnu narančastu boju uzorcima.

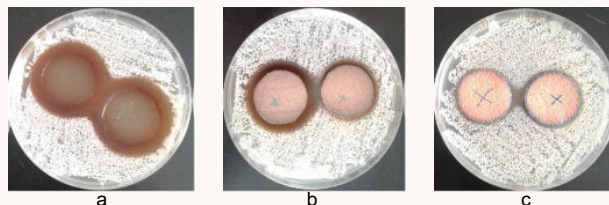
### 3.2. Rezultati određivanja antimikrobne učinkovitosti uzoraka kože

Rezultati određivanja antimikrobne učinkovitosti neobrađenih i predobrađenih uzoraka kože spram bakterijskih vrsta *Staphylococcus aureus* i *Klebsiella pneumoniae* prikazani su u tab. 5.

**Tablica 5.** Rezultati određivanja antimikrobne učinkovitosti uzoraka vegetabilno štavljene kože spram gram pozitivne bakterije *Staphylococcus aureus*

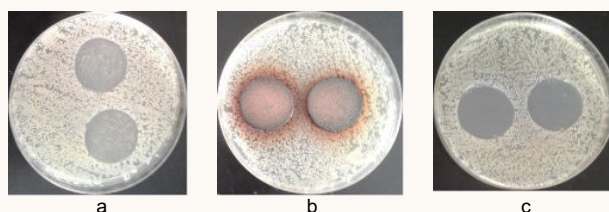
Oznaka uzorka	H [mm]	Rast bakterija/ Opis	Procjena
<i>Staphylococcus aureus</i>			
N	5	nema rasta: zona inhibicije jasno vidljiva	dobar učinak
Ar/CH	4,5	nema rasta: zona inhibicije jasno vidljiva	dobar učinak
M (moćen)	7,5	nema rasta: zona inhibicije jasno vidljiva	dobar učinak
moćen Ar/CH	3,5	nema rasta: zona inhibicije jasno vidljiva	dobar učinak
<i>Klebsiella pneumoniae</i>			
N	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak
Ar/CH	0	blagi: nema zone inhibicije, ograničene kolonije, rast je gotovo potpuno reduciran	ograničena učinkovitost
M (moćen)	0	nema rasta, nema zone inhibicije	dobar učinak

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



**Slika 7.** Primjer zona inhibicije nakon inkubacije bakterije *Staphylococcus aureus* na uzorcima kože kojim se potvrđuje dobar antimikrobni učinak: a-c.

S obzirom na dobivene rezultate, većina uzoraka pokazuje dobar učinak spram bakterije *Staphylococcus aureus*, nakon provedenih obrada (tab. 5.). Vegetabilno štavljeno uzorak pokazuje značajnu antimikrobnu aktivnost prije predobrade plazmama i obradama hitozanom. Izvrsne rezultate pokazuje vegetabilno štavljeno obrađeno uzorak kože prije i nakon močenja, a nakon obrada taj je učinak i dalje izvrstan, no primjetna je smanjena zona inhibicije (sa 7,5 mm na 3,5 mm zone inhibicije), te takav uzorak nije potrebno dodatno obrađivati antimikrobnim sredstvima kako bi pokazao odličnu antimikrobnu učinkovitost. Tanin kojim je proveden postupak štavljenja dodan je u suvišku i zbog toga je rezultirao izuzetno velikom zonom inhibicije, koja je vidljiva i nakon močenja koje je provedeno radi uklanjanja suviška tanina iz kože. Postignuti učinak vidljiv je na sl. 7.a-c.



**Slika 8.** Primjer rezultata nakon inkubacije bakterije *Klebsiella pneumoniae* na uzorcima kože: a- područje ispod uzorka – vidljiv rast kolonija; b- minimalni rast; c- bez zone inhibicije i bez rasta ispod uzorka - dobar antimikrobni učinak

Dobiveni rezultati kod kojih je testiran antimikrobni učinak obrađenih uzoraka kože spram negativne bakterije *Klebsiella pneumoniae* pokazuju uglavnom dobar antimikrobni učinak, koji se manifestira bez rasta bakterija i bez vidljive zone inhibicije (sl. 8.c). Opći zaključak vidljiv na temelju dobivenih rezultata prikazanih u tab. 5. i na sl. 8. ukazuju da provedene predobrade plazmom i obrade sredstvima pokazuju da ne dolazi do difuzije sredstva u agar i time je zona inhibicije izostala, iako gotovo svi uzorci, pa i neobrađeni pokazuju redukciju (inhibiciju) rasta bakterija ispod njihove površine.

## 4. Zaključak

Na temelju dobivenih rezultata mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- Spektrofotometrijskom analizom promjena obojenja vegetabilno štavljenog uzorka nakon procesa močenja vidljiva je značajna ukupna promjena u boji (dE) koja se može pripisati promjeni u zasićenosti te pomaku prema žutim tonovima. Karakteristična smeđa boja uzorka potječe od vegetabilnog štavila s visokim sadržajem tanina koje je ujedno odgovorno za iznimnu antimikrobnu učinkovitost. Promjena u obojenju nakon močenja ukazuje na otpuštanje tanina koji je u vidu štavila nanesen u suvišku.
- Utjecaj tanina u vegetabilnom štavilu vidljiv je u rezultatima ispitivanja antimikrobne učinkovitosti spram dviju bakterijskih vrsta *Staphylococcus aureus* i *Klebsiella pneumoniae* gdje i neobrađeni uzorci prije i nakon močenja pokazuju visoku razinu antimikrobne učinkovitosti. Takav uzorak nije potrebno dodatno obrađivati antimikrobnim sredstvima kako bi pokazao odličnu antimikrobnu učinkovitost jer je već posjeduje, ali se treba obratiti pažnja na količinu sredstva za štavljenje kože, također i vegetabilnog jer dugoročno može izazvati neželjene učinke [12].

## Literatura

- [1] Krishnamoorthy G., Sadulla S., Sehgal P.K., Mandal A.B.: Green chemistry approaches to leather tanning process for making chrome-free leather by unnatural amino acids, *Journal of Hazardous Materials* 215-216 (2012) 173-182.
- [2] Lischuk V., Plavan V., Danilkovich A.: Transformation of the collagen structure during beam-house processes and combined tanning, *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences* 12 (2006) 188-198.
- [3] <http://tehnika.lzmk.hr/tehnickaenciklopedija/kozarstvo.pdf>, Pristupljeno: 2023-09-08.
- [4] Sathiyamoorthy M., Selvi V., Mekonneu D., Habtamu S.: Preparation of eco-friendly leather by process modifications to make pollution free tanneries, *Journal of Engineering, Computers & Applied Sciences* 2 (2013) 5, 17-22.
- [5] Kite M., Thomson R.: *Conservation of leather and related materials*, Routledge New York 2006, 4-34.
- [6] Shirmohammadli Y., Efhamisisi D., Pizzi A.: Tanins as a sustainable raw material for green chemistry: A review, *Industrial Crops & Products* 126 (2018) 316-332.
- [7] [https://www.e3s-conferences.org/articles/e3sconf/abs/2021/103/e3sconf\\_pepm2021\\_03004/e3sconf\\_pepm202103004.html](https://www.e3s-conferences.org/articles/e3sconf/abs/2021/103/e3sconf_pepm2021_03004/e3sconf_pepm202103004.html), Pristupljeno: 2023-09-10.
- [8] Ercegović Ražić S., Akalović J., Ivanković T., Peran, J., Ištef K.: Plasma Pre treatments Improves Antimicrobial Properties of Bovine Splitted Leather, *Book of Proceedings of 13th International Scientific – Professional Symposium Textile Science & Economy*, Petrak S., Zdraveva E., Mijović B. (ur.), Sveučilište u Zagrebu Tekstilno-tehnološki fakultet, Zagreb 2020, 15-20.
- [9] <https://www.ttf.unizg.hr/laboratorij-za-obra-du-plazmom/610>, Pristupljeno: 2023-09-10.
- [10] HRN EN ISO 20645:2008: Tkanine – određivanje antibakterijske aktivnosti – Ispitivanje difuzijom na ploči s agarom (ISO 20645:2004; EN ISO 20645:2004).
- [11] <https://www.ttf.unizg.hr/laboratorij-za-metrik-u-boja/606>, Pristupljeno: 2023-09-10.
- [12] Ercegović Ražić S., Kopjar N., Kašuba V., Skenderi Z., Akalović J., Hrenović J.: Evaluation of DNA-Damaging Effects Induced by Different Tanning Agents Used in the Processing of Natural Leather—Pilot Study on HepG2 Cell Line, *Molecules* 27 (2022) 20, 7030, 15.

## Zahvala

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

