

КОЛАГЕН И КЕРАТИН - ОТПАДНИ ПРОДУКТИ ОТ КОЖАРСКОТО И ТЕКСТИЛНО ПРОИЗВОДСТВО И НАЧИНИ ЗА ОПОЛЗОТВОРЯВАНЕТО ИМ

Дарина ЖЕЛЕВА, Маргарита КОЛЕВА
ХТМУ, Технологичен дизайн на текстила и кожите,
e-mail: darinajeleva@abv.bg

COLLAGEN AND KERATIN - WASTE PRODUCTS FROM LEATHER AND TEXTILE PRODUCTION AND METHODS FOR THEIR UTILIZATION

Darina ZHELEVA, Margarita KOLEVA
UCTM, Technological Design of the Textile and the Leathers
e-mail: darinajeleva@abv.bg

ABSTRACT

The production of leather and leather goods is the world's largest industrial sector, which uses by-products. It processes the potential meat waste into high quality consumer goods. But at the same time, the leather industry is one of the most intense pollutants of the environment, releasing: carrion (decomposing subcutaneous tissue), leather, hair, soluble proteins, fats, chemicals. The textile industry also generates a significant amount of hair waste during the production and processing of wool. The leather and hair waste contains valuable raw materials: collagen and keratin.

Every year, biomass over 50 billion t collagen is accumulated in the world, and only ~ 4 million t are used. Also, keratin waste exists in abundance, i.e. these are waste from the leather and textile industries, from slaughterhouses, poultry farms, etc., estimated at 5 million t globally.

Collagen and keratin isolated from leather and textile waste are applied in the following areas:

- 1) obtaining new materials for the leather industry;*
- 2) in food processing and other industries (paper, furniture);*
- 3) in agriculture as organic fertilizer components and feed mixtures;*
- 4) application in cosmetics, pharmacy;*
- 5) in medicine such as collagen and keratin biomaterials.*

The main methods for processing of collagen- or keratin-containing waste include various types of hydrolysis: alkaline, acidic and enzymatic, but enzymatic processing of collagen containing raw materials is the most environmentally friendly.

The keratin hydrolysis is accompanied by a number of difficulties due to the nonreactivity and resistance of keratin. Nevertheless there is a progress in the extraction of keratin products and their use as biomaterials. Experimental we also have obtained keratin hydrolyzates from goat hair and sheep wool using various reducing agents and various reaction conditions. Optimizing hydrolysis procedure is of great importance to environmental protection and to receive energy-saving technologies in this field.

Keywords: collagen, keratin, hydrolyzates, biocomposites

УВОД

Кожата, като продукт на бита, е сред основните суровини в ранното човешко развитие. През вековете човечеството постепенно усвоява подбора, консервирането, обработката и конфекциониранието на естествените кожи. В процеса на усъвършенстване на технологиите за постигане на високо качество и ефективност се нарушава екологичното равновесие в природата. Кожарската промишленост е един от най-интензивните замърсители на околната среда.



Говеждите, овчите, козите и свински кожи съставляват почти 100% от световното кожарско производство. През 2012 г. е произведено следното количество кожа от различните суровини [1]:

Таблица 1

Обработени сурови кожарски кожи през 2012 г.

Видове кожи	Тона сурови кожи на година, осолено тегло
Говежди кожи	6 262 800
Овчи и кози кожи	1 177 200
Свински кожи - приблизителна оценка	900 000
Общо	8 340 000

Известно е, че само 20-25% от суровата кожа преминават през всички процеси на преработка включващи различни химични реагенти и се превръща в обработена кожа, продукт на кожарската промишленост. От използваните през 2012 г. в кожарското производство 8,5 Mt (мегатона) осолени кожи и приблизително 4,5 Mt химикали, значителна част попадат в отпадъчните води. При обработването на 1 t сурови кожи се отделят 50 m³ течни и 800 kg твърди отпадъци. Подходът за управление е търсене на новаторски методи и начини за създаване на нови материали за промишлеността и бита от отпадъчните продукти.

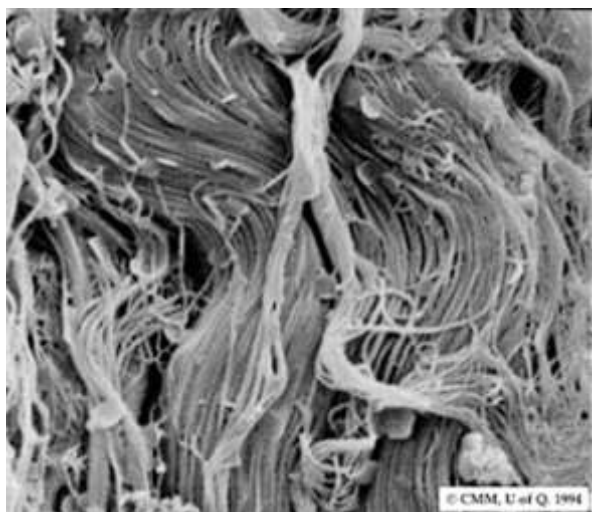
В групата на органичните вещества, които участват в състава на суровата кожа, се включват различни видове белтъци, липиди и въглехидрати. От основните класове белтъци (колаген, кератин, еластин, ретикулин, гликопротеини, албумини и глобулини), колагенът съставлява около 98% от състава на органичната материя и се намира в кожната тъкан. В кожарските отпадъци колагенът присъства в най-голямо количество и те могат да бъдат използвани като източник на тази ценна суровина. Получаването и използването също и на кератинови хидролизати от отпадни продукти от различни промишлености е актуален проблем и много изследователи имат разработки в областта.

Целта на настоящото изследване е да се анализират възможности за преработване на колаген- и кератинсъдържащи отпадъци от кожарското и текстилно производство и възможности за приложението им в различни области: медицина, фармация, козметика, селско стопанство, повторна употреба в кожарската индустрия и др.

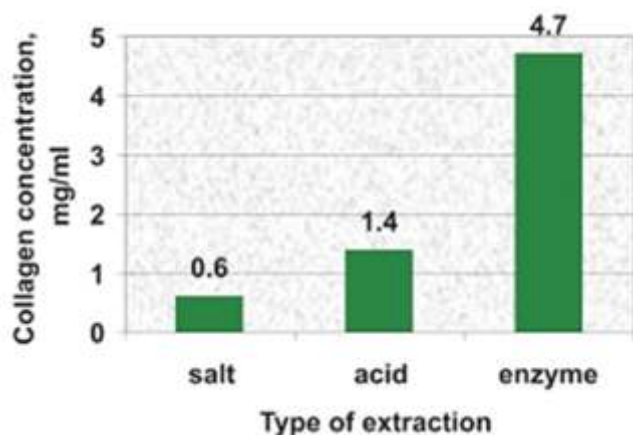
1. Колагенови отпадъци

Колагеновите отпадъци включват месните отпадъци (~60%), сурови обрезки, варови обрезки и остатъци от цепенето, хромсъдържащи кожарски отпадъци, получени след процеса дъбене (фалцови стружки, изрезки, парченца, кожен прах и т.н.). Дори изолиран от колагенсъдържащи материали, колагенът запазва химичните си свойства и структура, близки до тези на нативния. Поради тази причина се правят опити негови деривати, композити и модифицирани форми да бъдат приспособени за различни цели. Колагенът може да бъде

изолиран чрез различни видове екстракция: с неутрални соли; киселини; основи; с ензимни разтвори; и комбинирани методи. Количеството на получения разтворим колаген е най-високо при ензимната екстракция (*Фигура 2*).



Фигура 1 SEM на колагенова структура



Фигура 2 Количество екстрахиран разтворим колаген получен чрез различни методи на екстракция

1.1. Приложение като нови материали в кожарската промишленост

В кожарската промишленост една от възможностите за употреба на колагена е като дъбещ агент [2]. Резултатите показват, че кожи обработени с модифициран протеинсъдържащ материал са по-пластични от тези, при които е използван чист формалдехид. Изследван е модифициран дъбилен материал на колагенова основа и хром и алуминий. Готовите кожи са с добри физикомеханични свойства, меки и с устойчиво багрене. Това води и до намаляване на хромовите соли в отпадъчните води.

Модифицирани колагенови отпадъци се използват и за получаване на додъбвачи, пълнещи материали, също и като продукти за апретура на кожарски кожи. Най-често модификациите са с полиуретани, акрилова киселина и етилортосиликат, силоксан и акрилов естер.

1.2. Приложение в хранителната промишленост

Използването на колагеновите хидролизати в хранителната промишленост е под формата на желатин и като добавки в храни за животни. Високото съдържание на аминокиселини е най-важната предпоставка за това. Сред колагеновите отпадъци се открояват основно варосаните кожарски отпадъци, както и тези от суровите кожи, защото при тях свързването на химикали е по-слабо в сравнение с това на отпадъците, получени след дъбене и финиширане. От отпадъците, които не са подлагани на дъбене, се използват за получаването на желатин или лепило [3]. В някои държави-членки на ЕС тези отпадъци се преработват и прилагат като обвивки за колбаси.

1.3. Използване в селското стопанство

Използването на колагеновите отпадъци като компост и висококачествен органичен тор също е една от възможностите за употребата им [3].

1.4. Употреба в други промишлености (хартиена, мебелна, каучукова и др.)

Лепилата (туткал) от колагенови хидролизати създават лепилни шевове с висока якост, гъвкавост и здравина при материали като хартия и дърво. Поради добрите функционални характеристики колагеновите хидролизати се използват и като пълнещи агенти в хартиената промишленост [4].

В изследване са представени кондензационни лепила на база карбамид-формалдехид и фенолформалдехид, модифицирани с протеинови хидролизати. Изследванията потвърждават значително намаляване на формалдехидните емисии от дървените панели, увеличаване на водоустойчивостта на залепените материали [5].

Нова генерация от еластомери, съдържащи като пълнители нови биополимери, е друг подход за използване на колагеновите отпадъци.

1.5. Приложение в козметиката, фармацевцията и в медицината като биоматериали

Биоматериалите като заместители на човешката кожа са сред първите примери в тъканното инженерство (например временни превръзки при хронични рани). Колагенът широко се използва под формата на хидрогел при третиране на рани, като заместител на кръвната плазма в разтвори, за подготовка на клетъчни култури, в козметични продукти, лекарства, тъй като има висока биологична съвместимост с човешката кожа. Добрите възможности на тези колагенови материали е да подпомагат възстановяването на кожата чрез създаване на подходяща среда. Високото съдържание на хидрофилни групи и аминокиселини в неговата структура ускорява метаболизма на кожната тъкан и се постига много добро хидратиране, също проявява и ефект на запълване на кожата при елиминиране на бръчки. Това го прави изключително търсен компонент в козметичната индустрия [6]. Основен недостатък на колагена са лошите му физико-механични показатели, поради това се подлага на различни модификации.

До 70^{-те} години на ХХ в. допълнителната обработка на хромсъдържащите кожарски отпадъци не е била задължителна. В резултат на това тези отпадъци са складирани и депонирани, а само малка част от тях е била използвана след обработване за получаване на материали за строителството, за ходила и влакнеста хартия. Между 70^{-те} и 90^{-те} година на ХХ в. се разработват различни методи за допълнителна обработка на тези отпадъци и извличането на ценните съставки от тях. Целта е използването им като суровини в други производства - хранително-вкусова, фотография, торове, козметика. В този период алкалната хидролиза е извършвана с използването на $\text{Ca}(\text{OH})_2$ или NaOH . Киселинната и ензимната хидролиза са използвани за извличане и изолиране на свободен хром от белтъчните фракции. При пероксидното окисление на кожарски отпадъци могат да се извличат колагенови влакна и $\text{Cr}(\text{VI})$. За съжаление при всички изброени процеси като страничен продукт се образува канцерогенния $\text{Cr}(\text{VI})$ в различни количества. Това от своя страна изисква използването на допълнителни процеси за неговото неутрализиране. Те оскъпяват в значителна степен основния

продукт на производството - обработената кожа. Знае се, че извличането на хрома, колкото и да е пълно, никога не е цялостно. Също така честите хидролизи повишават разграждането на колагена до все по-нисши структури. Те от своя страна преминават в разтвора и образуват съединения с $\text{Cr}(\text{VI})$ [7].

През последните години особено внимание се обръща на възможно по-пълното усвояване или разграждане на хромсъдържащите кожарски отпадъци. Обработването на тези отпадъци с ензими има своите предимства и недостатъци. Комбинирането на различни видове хидролитични ензими - протеази, карбохидрази, липази е дори препоръчително за по-пълното почистване и усвояване на отпадъците. Съществен недостатък на ензимното третиране е неговата цена и въпреки доста високите добиви все пак остава минимално количество отпадък под формата на утайка или разтвор.

Получаване на хромов хидролизат от хромови стружки, отделяне на хрома чрез хидролиза (алкална, киселинна, ензимна), пречистването му и използване след това за органичен тор, добавки в храни за животни, биокомпозити и наноматериали изследват индийски учени [8].

През 80^{-те} години на ХХ в. колагенът става основно използваната биомолекула в много медицински направления [9]. Поради своите ценни биологични качества: биосъвместимост, биоразградимост, които са добре изучени, през последните десетилетия към него се проявява нарастващ научен интерес и по-специално в областта на костно имплантната хирургия.

Непосредственото използване на колагенови материали за медицински цели, например: биопротези, импланти, хемостатични гъби, носители на лекарствени вещества водят до тяхното бързо разпадане [10]. За да може да се използва колагена като клиничен материал, трябва да се намалят до минимум антигенните му свойства. Методите за постигане на тази цел са насочени към създаване на нови, допълнителни връзки между колагеновите молекули, т.е. към модификация, чрез която да се получи здрава и гъвкава структура с определени физико-механични свойства.

Разтворимостта на колагена в оцетна киселина осигурява възможност за смесването му с други водоразтворими полимери. Има многобройни изследвания относно

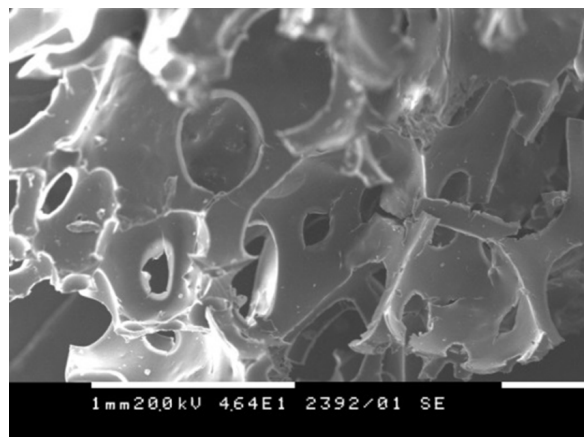
съвместимостта на колагена със синтетични полимери и с други естествени полимери, както и за самостоятелното му приложение като биомедицински материали [11,12]. Детайлно са изследвани в медицинската практика биокомпозити на база колаген и водоразтворими синтетични полимери, а именно: поливинилпиролон (PVP); поливинилалкохол (PVA); полиетиленгликол (PEG); полиетиленоксид (PEO). Други използвани синтетични полимери са: полиуретани (PU); полигликолова-(PGA), полимлечна киселина (PLA), поли(DL-лактид-съгликолид)- PLGA. Композитните материали могат да бъдат изготвени във вид на тънки филми, хидрогелове или гъби.

Композити на база колаген и полиуретан, съчетаващи предимствата на природния и синтетичния материал, се използват като биоматериали за тъканното инженерство, медицината: доставка на лекарствени препарати и др. Разработена е гъвкава, биоразградима порьозна структура за трансплантация на клетки под формата на композитен материал на база биорагадим поли (естеруретан) карбамид и колаген тип I [13].

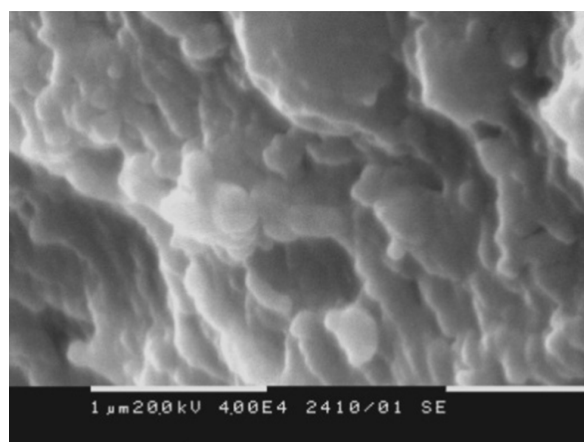
Изследван е синтезът и свойствата на микропорест композит на база полиуретан и колаген (0-15 wt.%) [12]. Получените двуфазни структури се характеризират с изключителни механични свойства, пори с необходимите размери и биосъвместимост, които са важни показатели за биомедицинско приложение.

Успешно са получени нановлакна на база колаген и функционализиран термопластичен полиуретан (TPU/колаген) чрез техника на електроовлажняване [14].

Проведеното от нас изследване е на биокомпозити на база полиуретан и колаген в количество (5 и 10 wt. %). Появата на водородни връзки между колагена и полиуретановите макромолекули е показател за заздравяване или омрежване на структурата на композита. Порите са взаимосвързани в скелетната структура (Фигура 3). SEM изображението на Фигура 4 показва отлагане на агломерати от хидроксилапатит със сферични размери при *in vitro* изследванията [15,16].



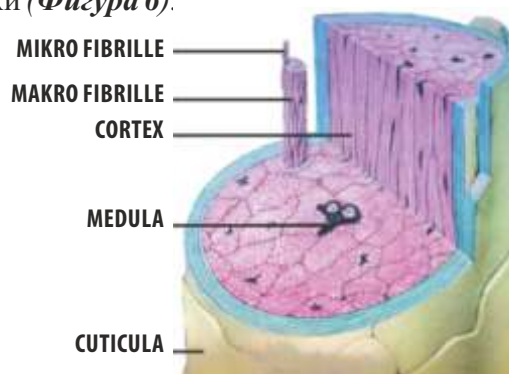
Фигура 3 SEM на композити PU/Coll



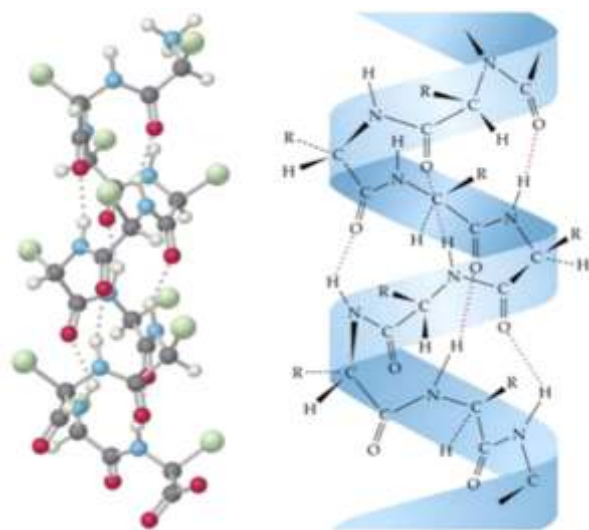
Фигура 4 SEM на PU/Coll след 7 дни в 1.5SBF

1. Кератинови отпадъци

Роговото вещество в животинските организми е изградено почти изцяло от белтъка кератин. Той участва в състава на космите, вълната, рогата, ноктите, перата, копитата и роговия слой на епидермиса. Косменият кератин съдържа по-голямо количество цистиинови остатъци в неспираловидните си участъци, което води до стабилни структури чрез образуване на междумолекулни дисулфидни връзки (Фигура 6).



Фигура 5 Строеж на косъма



Фигура 6 Строеж на веригите на β -кератина

Кератиновите отпадъци съществуват в изобилие, т.е. това са отпадъците от птицеферми, кланици, кожухарската и текстилната промишленост, изчислени на 5 млн. тона годишно в световен мащаб. Вълната, например съдържа до 95% чист кератин, който може да бъде използван. Но за съжаление малка част от тези отпадъци биват оползотворени, а останалата част представляват опасност за околната среда [17].

Новите технологии със запазване целостта на отделената косъмна покривка генерират нов твърд отпадък. В процеса на обезкосмяване със запазване на косъма е възможно да се възстанови косъмната покривка до 10% (с влагосъдържание до 70-75%) от теглото на солените говежди кожи. Отчитайки например, че Аржентинската кожарска промишленост средно обработва 30 000 тона кожи на ден, около 100 тона е отпадъка от мократа косъмна покривка, което ни позволява да оценим колко голям е проблема. От друга страна отпадъкът е протеин, който заслужава специално внимание с възможност да бъде използван за различни цели [18].

Съществуват две основни различни алтернативи, групирани в такива със запазени фибрилярни свойства на косъмната покривка и такива използващи хидролизни продукти, където кератиновите отпадъци се подлагат на химична, термична или биологична хидролиза [19]. Изборът на метод за хидролиза зависи от приложението на крайния продукт.

2.1. Приложение на кератина в селското стопанство

Едно от приложенията на кератиновите отпадъци (с или без хидролиза), което е много атрактивно като опит за повишаване на стойността на отпадъка, е използването им като компост.

Продукти за торене са използвани с търговска цел за органично производство, произведени от различни фирми. Те са получени чрез частична хидролиза на косъма [20]. Тореният продукт съдържа: 10% органичен азот, 38% органичен въглерод, 13% хумусна киселина, 11% друг вид киселина, 59% аминокиселини и 8% влага. Друго приложение на обработени в реактори при висока температура и налягане кератинови отпадъци е приложението им като добавка в храни за животни. Кератиновите хидролизати са изследвани като белтъчна суровина за балансиране на пилешка храна и е установено, че имат висока метаболитна енергия и са полезни като добавка.

2.2. Приложение на кератина в козметиката, фармацевтиката и в медицината

Най-ранната употреба на кератини за медицински цели от китайския билкар *Li Shi Zhen* датира от 16 век [17]. В неговите книги е описано вещество направено от пепел от изгорена коса, което е използвано за ускоряване зарастването на рани и съсирването на кръвта, наречено *Xue Yu Tan*, известно също като *Crinis Carbonisatus*.

През годините 1905-1935 г. са разработени много методи за хидролиза на кератини, използващи окислително-редукционни способи. Тези технологии за първи път са били прилагани при животински рога и копита, а също и за екстрахиране на кератин от вълна и човешка коса. Редица трудности съществуват по пътя на получаването на кератинови хидролизати, дължащи се на нереактивоспособността и устойчивостта на кератина. Хидролизата на пептидните връзки протича сравнително бавно в присъствие на киселини. Въпреки това през последния век се наблюдава напредък в екстрахирането, пречистването и охарактеризирането на кератинови протеини и приложението им като биоматериали.

Прилагат се методи на киселинна хидролиза за отделянето на меланин от косъма, който след това намира приложение в UV филтри, кремове, бои, шампоани.

При нашето изследване са използвани три метода на хидролиза: 1) с NaOH, 2) тиогликолова киселина и 3) в разтвор на натриев пиросулфат и карбамид. Използваните суровини са: нативен и ензимно третиран косъм от кози кожи. Разтварящата способност на трите реагента е сравнена и е показано, че NaOH има най-добро хидролизиращо действие върху дисулфидните връзки и съответно върху пептидните връзки, като предварителната ензимна обработка е улеснила тези процеси [21].

Биоматериалите на база кератин се оказват обещаващи поради характерната им биосъвместимост, биоразградимост, химична устойчивост и естествено изобилие. Кератинът от вълна е намерил подходящо приложение в козметиката и тъканното инженерство за изготвяне на скелетни структури за култивиране на клетки благодарение на химическото си подобие с човешката кожа и коса или посредством електроовлажняване с други полимери за получаване на нановлакна с приложение в различни области: от технически текстил до биомедицински артикули.

През 1982 г. японски учен публикува първото изследване за използване на кератиново покритие за съдово присаждане като начин за елиминиране съсирването на кръвта и изследва биосъвместимостта на кератина [17].

2.3. Кератинови биокомпозити

Екстрахираният кератин може да бъде преработен в различни форми: порьозни пени, гъби, подложки, филми, листове, гелове, микровлакна и масивни материали. Ограничено е използването на много биоматериали от естествен произход, особено на продуктите на база кератин, поради техните лоши механични характеристики. Фокусът на изследванията се измества към оптимизирането на физико-механичните показатели и запазването на отличната им биологична активност [9]. Разгледани са няколко подхода за контролиране на физичните и биологичните свойства, включително добавянето на естествени и синтетични полимери към кератиновите смеси и прилагането на нови препаративни техники за получаването на чисти кератинови филми.

Проведени са изследвания с цел повишане на механичните свойства на глицерол-съдържащите кератинови филми чрез добавяне на хитозан или кератин. Тези композитни филми

показват, че имат засилване на анти тромбогеницитните свойства и увеличаване на биосъвместимостта в сравнение с фиброина или самия кератин.

Прилагат се различни методи за обработка на кератина със синтетични или естествени полимери с цел повишаване на преработваемостта му във влакнообразуващи материали. Синтезирани са материали на база кератин/РЕО (полиетилен оксид) чрез смесване на воден разтвор на кератин и прахообразен РЕО и полученият материал показва добри механични свойства.

Изследвани са междумолекулните взаимодействия между кератин и полиамид 6 (РА6) с цел създаване на кератинови материали с широк спектър на приложение: от биомедицински устройства до активни филтри за вода и като текстилни влакна.

Като природен протеин кератинът от вълна е използван за подобряване на афинитета на клетките като композит с поли(L-млечната киселина) (PLLA). Установено е, че кератинът подпомага взаимодействията между остеобластните клетки и полимерната порьозна структура.

Разработени са мокро-предачни техники за произвеждане на нови влакнести кератинови материали, които имат потенциално приложение като хигиенни изделия [22]. Синтезирани са композити на база кератин, екстрахиран от птичи пера и био-модифицирана целулоза. Получени са биовлакна с по-добри сорбционни свойства, с по-висока хигроскопичност и по-малък ъгъл на омокряне, отколкото целулозните влакна.

Изследвана е възможността за приложение на порьозна мембрана на база пенополиуретан/кератин за отстраняване на шествалентен хром [23]. Кератинът създава активните места за биоабсорбцията на Cr(VI) и полиуретана играе важна роля в подпомагането на протеина.

Получени са влакна от водни разтвори на кератин в съчетание с поливинилалкохол (PVA). PVA увеличава вискозитета, което позволява предене на влакната с вариране съдържанието на кератина от 13-46%. Тази комбинация от кератин и PVA се оказва добра от гледна точка на механичната якост, водоустойчивостта, както и адсорбцията на токсичните вещества и може да намери приложение като абсорбент на токсични вещества, йони на

тежки метали и на токсичния газ от формалдехида.

2.4. Други приложения на кератина

Кератиновият хидролизат се използва като додъбващ агент при различни кожи.

В развитите страни има индустриални предприятия за производство на биогаз от анаеробна ферментация на смес от отпадъчна косъмна покривка, животински кости и екстреманти в биореактори. Биогазът, който се произвежда генерира електричество, докато твърдият материал се използва за тор. Основният недостатък е, че са нужни големи обеми от други органични отпадъци, които не са лесно достъпни [24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

От направено детайлно литературно проучване изпъква един много важен проблем, а именно натрупването на огромната отпадъчна биомаса от кожарското и текстилно производство на фона и на останалите замърсители на околната среда. От тук следва да се търсят начини за решаването на възникналите екологични проблеми. Едни от начините са максималното оползотворяване на суровата кожа, рециклирането на твърдите отпадъци, получени в процеса на обработката ѝ, използването на тези отпадъци като източници на енергия. Друга алтернатива е получаването на нови колагенови или кератинови материали от твърдите кожарски и вълнените и космени отпадъци с приложение в: медицината под формата на самостоятелни колагенови и кератинови биоматериали или като композитни материали на базата на колаген или кератин в съчетание с други естествени или синтетични полимери; във фармацията (колагенови и кератинови лекарствени препарати, добавки, носители на лекарства); в козметиката (кремове, филтри, шампоани); селското стопанство (торове и добавки за животински храни); хранително-вкусовата (желатин) и в други промишлености.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] FAO. World Statistical Compendium for Raw Hides and Skins, Leather and Leather Footwear 1993-2012, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 2013, 98-146
- [2] Kunyu Wang, Zh. Pan, Preparation and application of protein tanning agent, *Leather science and Engineering*, 2001, 11(3), 12-17, 22
- [3] Khalid, A., Arshad, M., Anjum, M. et. al., *Waste manage*, 2011, 31, 1737-1744
- [4] Jan Matyasovsky, Jan Sedliacik, Igor Novak et.al., *JALCA*, 2016, 111(6), 365
- [5] Rubina Chaudhary and Anupana Pati, *JALCA*, 2016, 111(1)10
- [6] Dongying Chen, *Collagen and Cosmetics, J. Flavour, Fragrance, Cosmetics*, 2016, 18-19
- [7] Wei Ding, Xuepin Liao, Wenhua Zhang, *JSLTC*, 2015, 3, 129
- [8] Venkatasubramania Sivakumar, T. R. Swathi, et.al., *JALCA*, 2015, 110(12)
- [9] B.D.Rather, A.S.Hoffman, F.J. Shoen, J.Lemons, *Biomaterials science –An Introduction to Materials in Medicine*, 1996, USA ISBN: 0-12-582460-2
- [10] M.Popescu, C.Vasile, D.Macocineschi, *Inter. J. of Biological Macromolecules*, 2010, 47, 646-653
- [11] E.Jabbari, M. Khakpour, *Biomaterials* 21(2000), 2073-2079
- [12] S. Oprea, J., *Composite Materials*, 44, 18, 2010
- [13] Jianjun G., John Stnakus, W.Wagner, *Cell Transplant.*, 2006 (15), S17-S27
- [14] Sarawathy G., S. Pal, C.Rose, T.Sastry, *Bull. Mater. Sci.*, 24, 4, 2001, 415-420
- [15] L. Radev, D. Zheleva, I. Mihailova, *In vitro Bioactivity of Polyurethane/ 85S Bioglass Composite Scaffolds*, *Central European Journal of Chemistry*, 11(9), 2013, 1439-1446
- [16] D.Zheleva, *Comparative analyses of keratin biocomposites with composites based on collagen*, *Bulgarian Chemical Communication*, 2015, Vol.47, p.10-15
- [17] Rouse J., Van Dyke M., *Meterial J.*, 2010, 3, A *Review of Keratin-Based Materials for Biomedical Applications*, 999-1014
- [18] M. I. Lorenzo, M. Turco, C. Parra, (CEPROCOR, Cordoba, Argentina/Units, *AQEIC*, 2015, 66(4), 79
- [19] Morera, J.M., Bacardit, A., *Minimization of the environment impact in the unhairing*, *Chemosphere*, 2008, 72(11), 1681-1686
- [20] Valeika, V., Beleska K., et.al., *J.Clener Production*, 2009, 17 (2), 214-221
- [21] D. Zheleva, M. Koleva, S. Stoeva, *Получаване и анализ на кератинови хидролизати от косъмната покривка на кози кожи*, *Текстил и облекло*, 4, 2018, 133-140
- [22] Wrzesniewska-Tosik K., Wawro D., *Novel composites with feather keratin*, *Fibres Text. Eur.J.*, 2007, 15, 157
- [23] Saucedo-Rivalcoba V., Martinez A., *Removal of hexavalent chromium from water by Polyurethane-keratin hybrid membranes*, *Water Air Soil Pollut. J.*, 2011, 218:557-571
- [24] G. P. S. Priebe and M. Gutterres, *JALCA*, 2017, 112 (2), 59