

ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ И СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ  
КОЛЛАГЕНОВОЙ ТКАНИ МЕТОДОМ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОГО  
ТЕРМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

A STUDY INTO PHYSICO-CHEMICAL AND STRUCTURAL CHANGES OF  
COLLAGEN TISSUE BY MEANS OF A DIFFERENTIAL THERMAL  
ANALYSIS

В последнее время, наряду с химическими методами анализа, широко применяются и физические. Они обеспечивают получение экспериментальных данных с большой точностью, упрощают анализ полученных результатов и экспрессность в проведении исследований. Одним из таких методов является метод дифференциального термического анализа (метод ДТА), сущность которого заключается в непрерывной одновременной автоматической записи температуры образца и разности температур образца и инертного тела, нагреваемых с заданной равномерной скоростью.

Фазовые превращения регистрируются на дифференциальной кривой в виде пиков, площадь которых пропорциональна количеству поглощенного или выделившегося тепла. Температуры начала пика и его вершины, приблизительно совпадающие с началом и концом фазового превращения устанавливаются по кривой нагревания образца (простой записи).

Поскольку отклонение дифференциальной кривой от базовой линии происходит только в момент фазового превращения, дифференциальная запись позволяет обнаружить очень малые тепловые эффекты, совершенно незаметные на кривой нагревания.

В настоящее время методом ДТА были исследованы структурные изменения коллагеновой ткани и определены дегидратация, сокращение обезвоженного коллагена, а также переход его в вязко-текучее состояние.

Исследовали образцы нативного коллагена дермы крупного рогатого скота с содержанием влаги около 20% при пониженном давлении 155 и 73 мм рт.ст. (для лучшего разделения пиков дегидратации и термической деструкции). Экспериментальные данные приведены на рис. 1.

Из термограмм (рис. 1) видно, что по мере повышения температуры в коллагене имеют место следующие тепловые эффекты: дегидратация (пик - 70-92°C), сверхсокращение обезвоженного коллагена (пик - 212-227°C), переход денатурированного коллагена в вязко-текучее состояние (пики - 244-250°C и 258-265°C), деструкция коллагена (при 276°C).

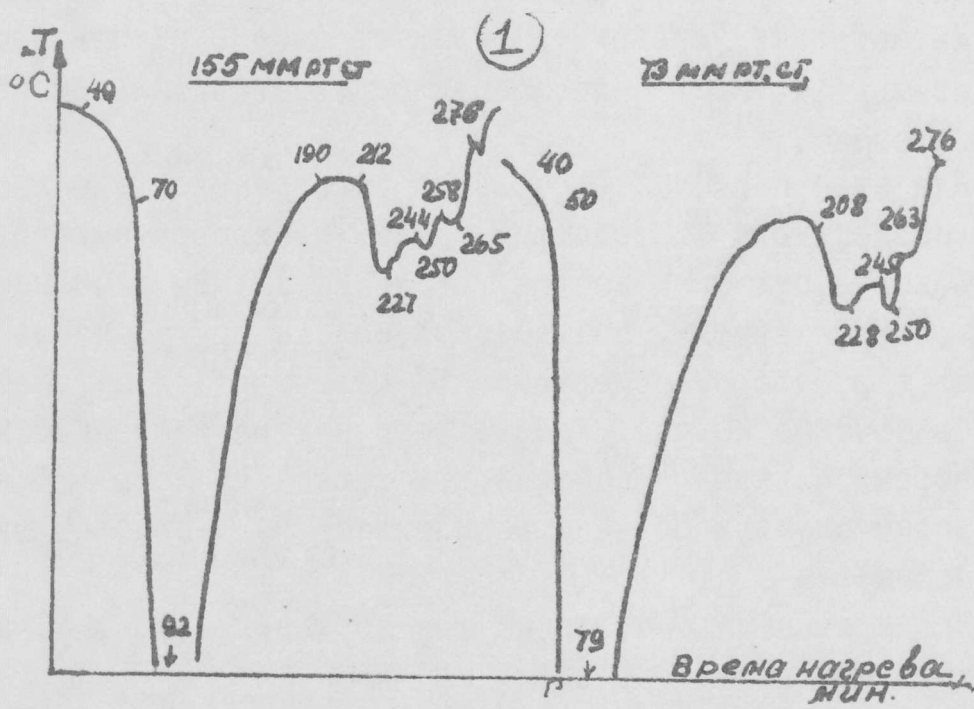


Рис. I. Термограммы нативного коллагена

При понижении давления до 73 мм рт.ст. пик дегидратации сместился к 50–79°C, тогда как пики "сверхсокращения" и "деструкции" остались прежними.

Поскольку температуры сваривания, сверхсокращения, текучести и деструкции непосредственно связаны с тонкой структурой коллагена и определяются количеством и прочностью (энергией) межмолекулярных и внутримолекулярных связей, то можно, очевидно, по изменению этих температур составить определенное суждение об изменении связей в молекуле.

Указанный тип связей происходит в коллагене под воздействием, в частности, химических веществ.

Мы пытались установить характер изменений показателей тепловых эффектов в зависимости от предварительной обработки коллагена.

Для этой цели часть образцов коллагеновой ткани подвергали совместному воздействию 5%-ным раствором едкого натрия и 14%-ным – сульфата натрия в течение 12, 20 и 48 час. (II, III и IV опытные партии, соответственно), а другую часть выдерживали в растворе, содержащем 5% щелочи и 14% сульфата натрия, в течение 20 час., после чего нейтрализовали 0,5%-ным раствором соляной (V партия) или серной кислоты (VI партия). Контролем служили образцы из нативной коллагеновой ткани (I партия).

Экспериментальные данные для образцов I, III, V и VI партий представлены на рис. 2 и 3.

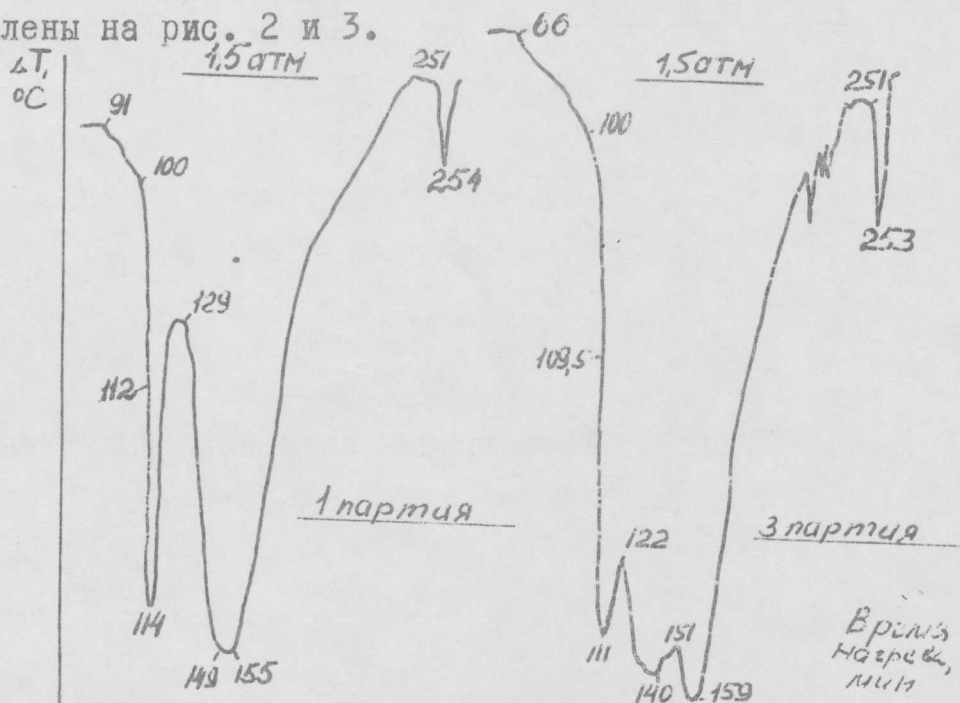


Рис. 2. Термограммы образцов коллагена I и III партий



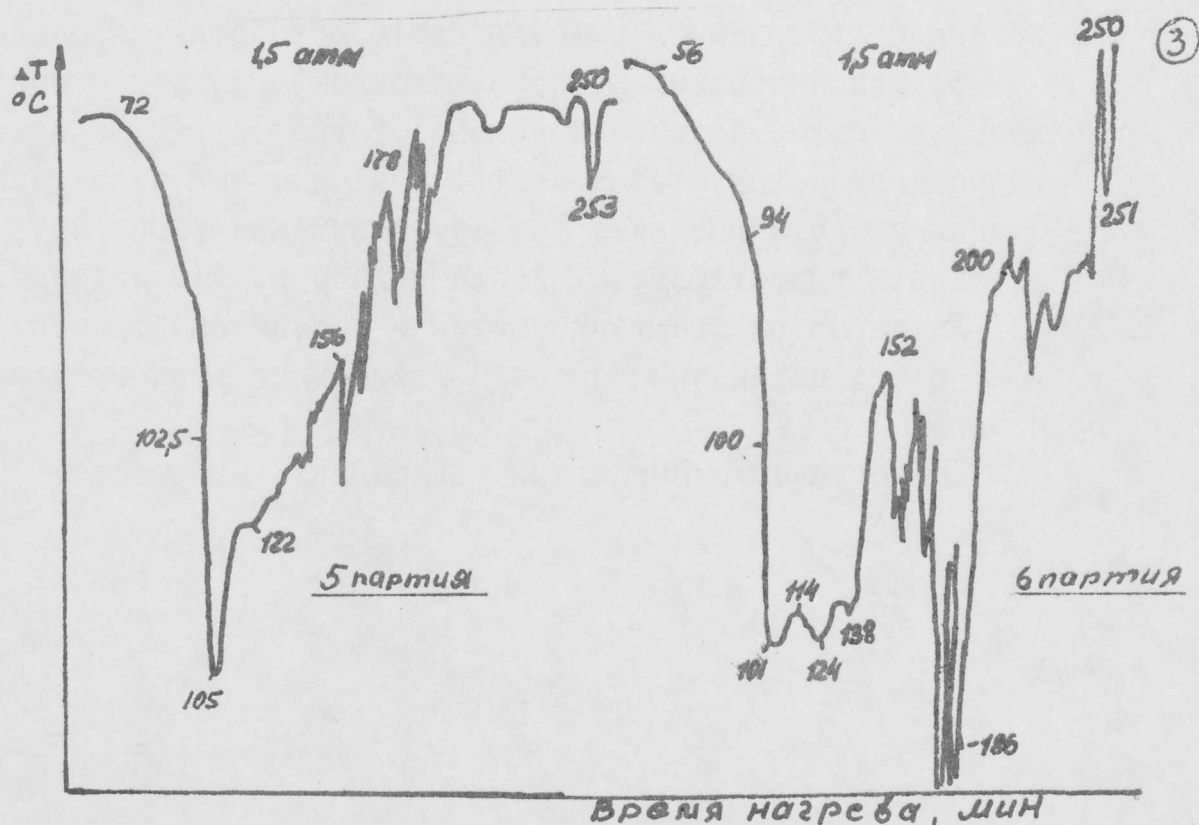


Рис. 3. Термограммы образцов коллагена У и UI партий

Как видно из термограмм (см.рис. 2 и 3), снятых при повышенном давлении (1,5 атм), когда удаление влаги из коллагена затруднено, сначала наступает денатурация (первый пик отвечает свариванию коллагена). Последующие пики относятся к частичной дегидратации с одновременно протекающей гидротермической деструкцией. Пики при 251 и 250°C соответствуют полной деструкции коллагена.

Гидротермическая деструкция денатурированного коллагена проявляется на термограммах в виде резких, нерегулярных пиков. Особенно интенсивно она протекает для 6-й партии коллагена в области температур 152–186°C (см.рис. 3).

Из этих термограмм ясно видно, что тепловые эффекты коллагена зависят от предварительной обработки его. Можно установить следующие закономерности термического поведения коллагена, отражающие эту зависимость:

- 1) температура сваривания коллагена понижается с увеличением интенсивности щелочной и кислотной обработки;
- 2) гидротермическая стабильность денатурированного коллагена с увеличением интенсивности обработки падает;
- 3) дополнительная (после щелочной) кислотная обработка вызывает более сильное понижение температуры сваривания и гидротермической стабильности, чем одна щелочная; при этом серная кислота вызывает большее понижение температур сваривания и гидротермической стабильности, чем соляная.

Температуры сверхсокращения и термической деструкции всех шести партий коллагена приведены на термограммах рис. 4 и 5.

Термограммы снимали при давлении 16 мм рт.ст.

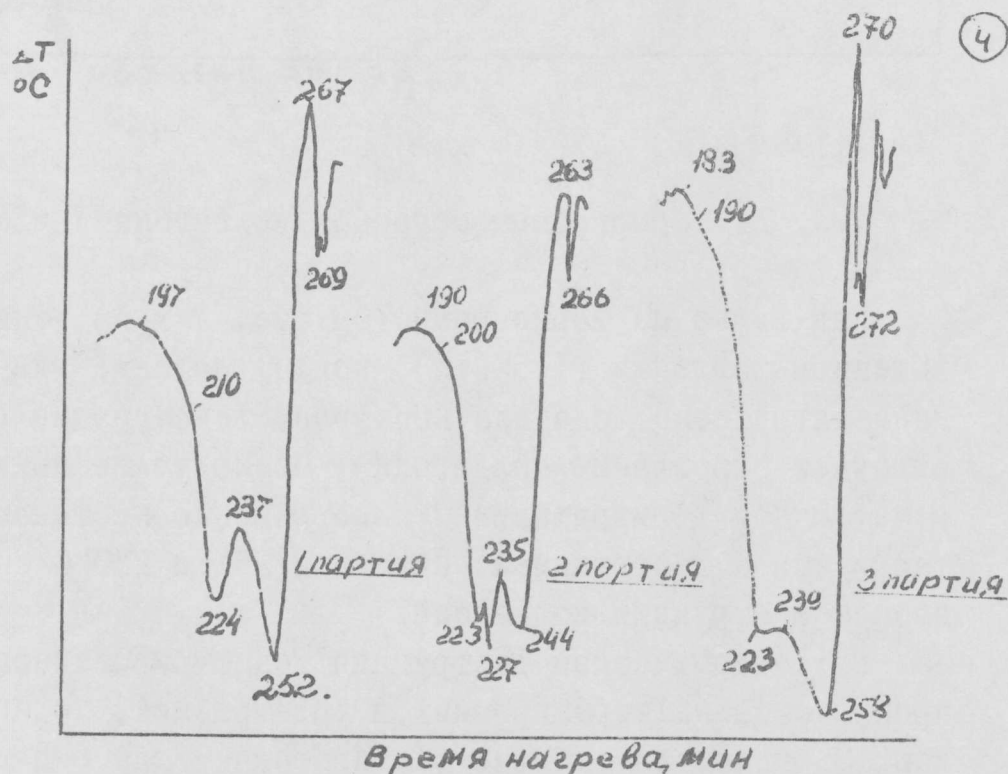


Рис. 4. Термограммы I, II и III партий коллагена

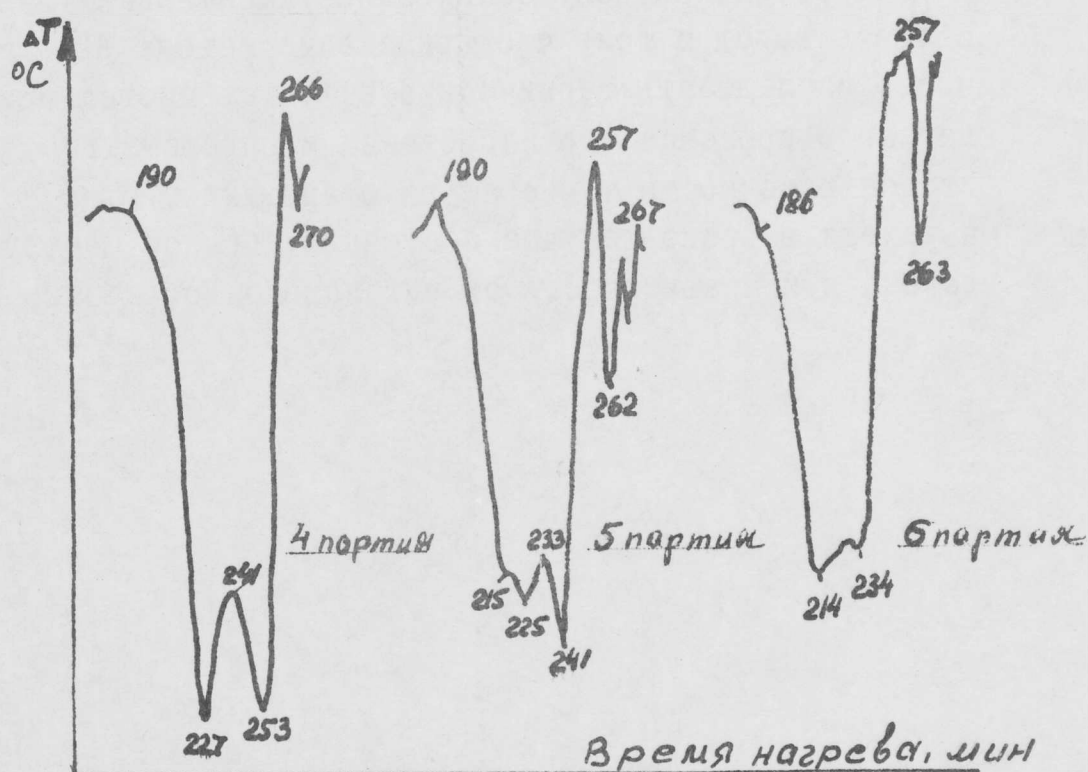


Рис. 5. Термограммы IV, V и VI партий коллагена

Пик дегидратации для всех партий коллагена лежит при  $29-58^{\circ}\text{C}$  и на термограммах не приведен. Термограммы снимали при повышенной чувствительности дифференциальной записи.

На рис. 4 для первых трех партий коллагена нельзя обнаружить какой-либо зависимости температур сверхсокращения, текучести и деструкции от вида обработки материала. В этом отношении эти температуры, при данных условиях термографирования (скорость нагрева и т.д.), менее чувствительны к изменениям структуры, вызванным мягким воздействием на ткань, чем температуры сваривания и гидротермической деструкции. Однако дополнительное кислотное воздействие вызывает заметное изменение температур сверхсокращения, текучести и деструкции. Так на термограммах рис. 5 видно значительное понижение температур сверхсокращения, текучести и деструкции для 5-й и 6-й партий коллагена. При этом, интересно отметить уменьшение общей площади пиков сверхсокращения и текучести и, в особенности, быстрое относительное уменьшение площади пика текучести для партий, подвергшихся кислотной



обработке.

На основании полученных экспериментальных данных можно сделать вывод о том, что применение метода ДТА дает возможность исследовать термические эффекты, протекающие в коллагене в процессе его нагревания и определить с высокой степенью точности температуры сваривания, сверхсокращения, перехода в вязко-текучее состояние, полной деструкции коллагена и их зависимость от интенсивной обработки коллагена.

LIST OF FIGURES

FIG.1. Thermograms of the native collagen

мм рт.ст.            - мм Hg

время нагревания, мин. - heating time, min.

FIG.2. Thermograms of collagen samples of batches I and III

партия                - batch

время нагревания, мин. - heating time, min.

FIG.3. Thermograms of collagen samples of batches V and VI

партия                - batch

время нагревания, мин. - heating time, min.

FIG.4. Thermograms of collagen batches I, II and III

партия                - batch

время нагревания, мин. - heating time, min.

FIG.5. Thermograms of collagen batches IV, V and VI

партия                - batch

время нагревания, мин. - heating time, min.