

J/2

XIX ЕВРОПЕЙСКИЙ КОНГРЕСС РАБОТНИКОВ НИИ МЯСНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МЯСНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ СССР

ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ СТРУКТУРЫ
КОЛЛАГЕНА ОССЕЙНА В ПРОЦЕССЕ ЕГО ОБРАБОТКИ

О.О.БАБЛОЯН, Н.Н.ТУЗОВА, М.Н.ПАТРАШЕВ

THE XIXth EUROPEAN MEETING OF MEAT RESEARCH INSTITUTES

THE ALL-UNION RESEARCH INSTITUTE OF MEAT INDUSTRY USSR

AN ELECTRONMICROSCOPIC STUDY OF CHANGES IN OSSEIN STRUCTURE DURING
ITS TREATMENT

O.O.BABLOYAN, N.N.TOUZOVA, M.N.PATRASHEV

DER XIX. EUROPÄISCHE KONGRESS DER FLEISCHFORSCHUNGSINSTITUTE

ALLUNIONS-FORSCHUNGSINSTITUT DER FLEISCHWIRTSCHAFT UdSSR

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG DER STRUKTURVERÄNDERUNGEN
VON KNOCHENKOLLAGEN BEI DESSEN BEHANDLUNG

O.O.BABLOJAN, N.N.TUSOWA, M.N.PATRASCHEW

А Н Н О Т А Ц И Я

Изучали изменения структуры коллагена кости (оссеина) в процессе щелочной обработки в растворах NaOH с Na_2SO_4 и Ca(OH)_2 .

При электронной микроскопии необработанного оссеина были обнаружены нитеобразные структурные элементы и характерная для коллагена поперечная исчерченность с частотой около 650 Å. С увеличением продолжительности щелочно-солевой обработки до 24 час. наблюдали постепенное исчезновение поперечной исчерченности фибрилл оссеина и разделение их на более мелкие структурные элементы.

Более длительная щелочно-солевая обработка, а также 30-суточное известковое зольение оссеина вызывали идентичные нарушения фибриллярной структуры белка.

S U M M A R Y

Changes in the structure of bone collagen (ossein) during alkali treatment in NaOH solutions with Na_2SO_4 and $\text{Ca}(\text{OH})_2$ were studied.

Electron microscopy of untreated ossein showed filamentous structural elements and cross-striation, characteristic of collagen, with the frequency of about 650 Å. Prolongation of alkali-salt treatment up to 24 hrs resulted in gradual disappearance of the cross-striation of ossein fibrils and in their separation into smaller structural elements.

Still longer alkali-salt treatment and 30-day liming of ossein caused similar changes in the fibrillar structure of this protein.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Es wurden die Strukturveränderungen von Knochenkollagen (Ossein) bei dessen Behandlung in Alkalilösungen NaOH mit Na_2SO_4 und $\text{Ca}(\text{OH})_2$ untersucht.

Bei der Elektronenmikroskopie des unbehandelten Ossein wurden fadenartige strukturelle Elemente und die für das Kollagen charakteristische Querstreifung mit der Frequenz von etwa 650 Å festgestellt. Bei der Verlängerung von Alkali-Salz-Behandlung bis 24 Stunden wurden das stufenartige Verschwinden der Querstreifung von Osseinfibrillen und deren Aufteilung in kleinere Strukturelemente beobachtet.

Eine längere Alkali-Salz-Behandlung sowie eine 30-tägige Kalkäscherung von Ossein haben identische Verletzungen der fibrillaren Eiweißstruktur hervorgerufen.

ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ СТРУКТУРЫ КОЛЛАГЕНА ОССЕИНА В ПРОЦЕССЕ ЕГО ОБРАБОТКИ

Строение коллагена дермы, сухожилий, костей и других частей организма на первичном, вторичном, третичном структурных уровнях в основном идентично. Главные отличия в форме, диаметре, переплетении фибрилл этих разновидностей коллагена можно обнаружить преимущественно на четвертичном уровне /1/.

В оссеине фибриллы являются наиболее крупными элементами структуры, которые тесно связаны с неорганическим веществом кости.

В последние годы большое внимание уделяют исследованиям тонкой структуры коллагена /2, 3, 4/. Особенно подробно изучена микроструктура дермы, а также структурные изменения, происходящие в результате различных обработок.

Исследования показали, что обработка известковым молоком в течение 4 дней не влияет на электронномикроскопическую картину коллагена дермы шкуры крупного рогатого скота. Некоторые нарушения структуры наблюдаются при месячном золении и более резко при двухмесячном. Характерная периодичность структуры у коллагена полностью исчезает после двухлетней обработки известковым молоком /2/.

Щелочно-солевая обработка едким натром в присутствии нейтральной соли за более короткое время вызывает дезориентацию структуры фибрилл коллагена. При обработке дермы крупного рогатого скота щелочно-солевым раствором, содержащим 5% NaOH и 140 г/л Na_2SO_4 , в течение 24 час. еще сохраняется упорядоченная структура коллагена и частично проявляется поперечная исчерченность, при концентрации щелочи 10% и 48-часовой обработке обнаруживаются только бесструктурные фибриллы /5/.

В работе приведены результаты исследований тонкой структуры оссеина и изменений коллагена при щелочно-солевой и известковой обработках, практикующихся в желатиновом производстве.

Оссеин обрабатывали раствором, содержащим 30 г/л NaOH и 140 г/л Na_2SO_4 , в течение 12, 24, 48 и 72 час. при 20°C , затем нейтрализовали раствором серной кислоты в присутствии серно-

кислого натрия и промывали водой до отсутствия в промывной воде ионов SO_4^{--} . Все образцы оссеина сушили спирто—эфирной смесью. Обработанный и исходный оссеин подвергали исследованиям на электронном микроскопе марки УЕМ-7 при ускоряющем напряжении 80 кв. Препараты для исследования готовились по следующей методике. Из каждого образца микрофрагменты наносили путем механического контакта на электролитическую сетку с парлодиевой подложкой. Для увеличения четкости электронномикроскопического изображения использовали 2%-ный буферный раствор фосфорно—вольфрамовой кислоты. После промывки в дистиллированной воде и подсушки на воздухе объекты рассматривали в электронном микроскопе.

На электронной микрофотографии исходного оссеина четко выявлены нитеобразные структурные элементы вдоль оси и характерная для коллагена поперечная исчерченность с периодом повторяемости около 650 Å. Толщина фибрилл в исследованных образцах колебалась от 800 до 2000 Å. Частичное разрыхление фибрилл коллагена исходных образцов, по-видимому, можно объяснить тем, что в процессе деминерализации кости под воздействием соляной кислоты коллаген несколько набухает (рис. I).

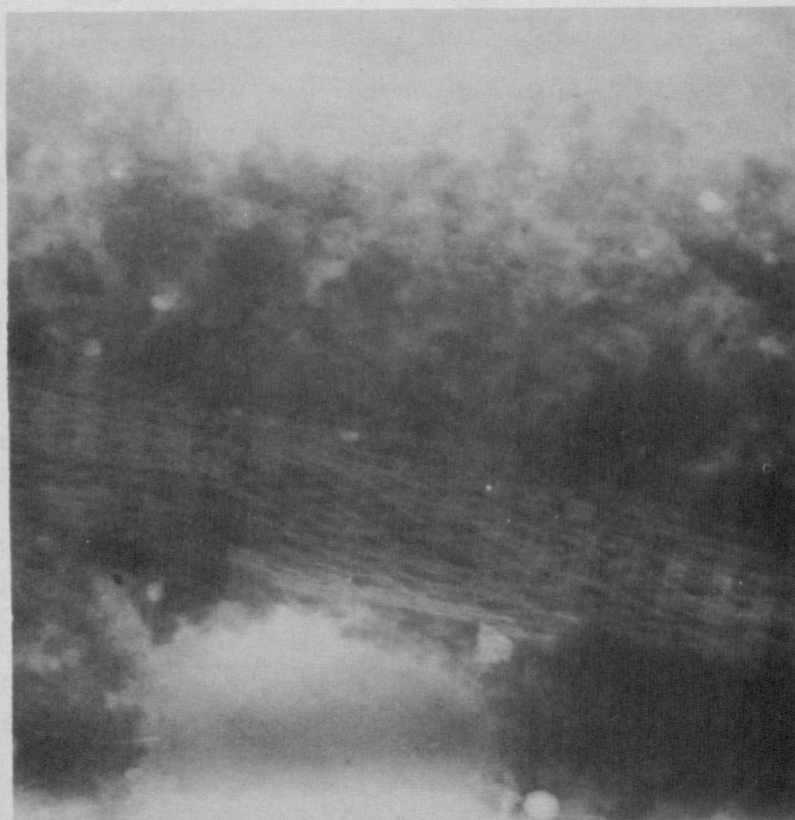


Рис. I. Электронная микрофотография исходного оссеина.
Увеличение $\times 100000$

Под электронным микроскопом видно, что при 12-часовой щелочно-солевой обработке несколько теряются контрастность поперечной исчерченности и плотности фибрилл (рис. 2).

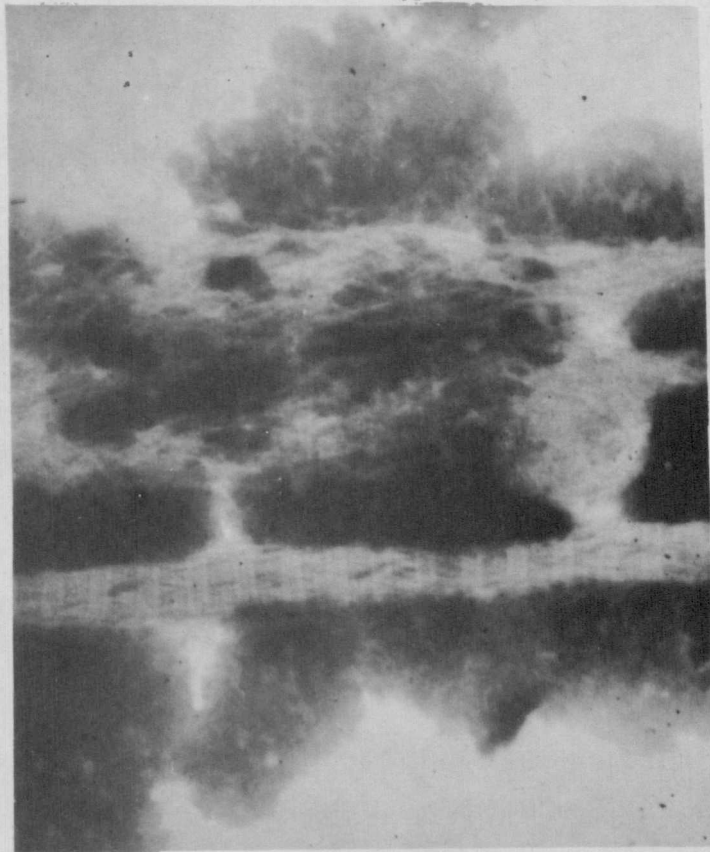


Рис. 2. Электронная микрофотография оссеина после 12-часовой щелочно-солевой обработки. Увеличение $\times 100000$

Обработка оссеина в течение 24 час. приводит к дальнейшей потере контрастности структуры и разделению фибрилл на более мелкие элементы. Поперечная исчерченность фибрилл исчезает полностью (рис. 3).

При обработке до 48-72 час. происходят более глубокие нарушения фибриллярной структуры коллагена (рис. 4-5); увеличиваются степень их набухания и гомогенизация белка.

При известковом зольении по традиционной технологии получения желатина фибриллярная структура коллагена теряет исчерченность и превращается в рыхлую гомогенную массу после 30-суточного зольения (рис. 6).

Указанные изменения можно объяснить значительным разрыхлением структуры коллагена, обусловленным разрушением различных видов внутри- и межмолекулярных связей.

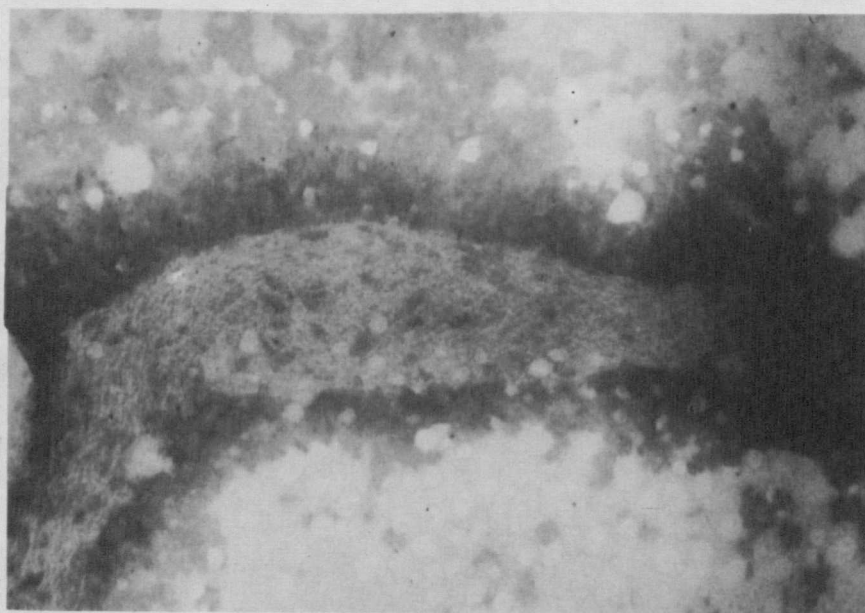


Рис. 3. Электронная микрофотография оссеина после 24-часовой щелочно-солевой обработки. Увеличение $\times 75000$



Рис. 4. Электронная микрофотография оссеина после 48-часовой щелочно-солевой обработки. Увеличение $\times 75000$



Рис. 5. Электронная микрофотография оссеина после 72-часовой щелочно-солевой обработки. Увеличение $\times 75000$



Рис. 6. Электронная микрофотография оссеина после 30-суточного зольения. Увеличение $\times 75000$

Сопоставление электронных микрофотографии показывает, что степень дезагрегации структурных элементов оссеина зависит от интенсивности щелочно-солевой обработки. Также можно предположить, что нет существенной разницы в характере изменения структуры оссеина при действии насыщенных растворов $\text{Ca}(\text{OH})_2$ и растворов NaOH в присутствии сернокислого натрия. Однако, имеется большая разница в длительности обработок, приводящих к аналогичным изменениям структуры.

Электронномикроскопические исследования подтверждают ранее полученные данные /6, 7/, что едкий натр действует интенсивнее за счет более высокой концентрации гидроксильных ионов, обеспечивающей высокую степень дезагрегации структуры коллагена в растворе $\text{NaOH} + \text{Na}_2\text{SO}_4$, чем в растворе $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. М и х а й л о в А.Н. Коллаген кожного покрова и основы его переработки. М., Изд. "Легкая индустрия", 1971.
2. З а й д е с А.Л. Структура коллагена и ее изменения при обработках. М., Ростехиздат, 1960.
3. В о г а с к у R., С и м о н у L., "J.Amer. Leather Chemistry Assoc.", 60, 148, 1965.
4. К ü h n К. "Das Leder", 11, 5, 1960, 110.
5. Б а б л о я н О.О., С т е ш о в Г.И., И с т р а н о в Л.П., К а с п а р ь я н ц С.А., П е р е в е р з е в Н.А. Электронномикроскопические исследования изменений структуры коллагена в результате щелочно-солевой обработки. Изв.вузов "Технология легкой промышленности", 4, 1966.
6. Т у з о в а Н.Н., П а т р а ш е в М.Н., Б а б л о я н О.О. Исследование физико-химических и структурных изменений коллагеновой ткани методом дифференциального термического анализа. ХУШ Конгресс работников НИИ мясной промышленности. 1972 (Канада).
7. Т у з о в а Н.Н., Б а б л о я н О.О. Исследование влияния щелочно-солевой обработки оссеина на превращение коллагена в желатин. ЦНИИТЭИмясомолпром. Экспресс-информация, клежеватинная промышленность, 4, 1972.