

## ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG DER STRUKTURVERÄNDERUNGEN VON KNOCHENKOLLAGEN BEI DESSEM BEHANDLUNG

Der Aufbau des Kollagens von Derma, Sehnen, Knochen und anderen Teilen des Organismus auf primären, sekundären und tertiären Strukturniveaus ist hauptsächlich identisch. Die Hauptunterschiede in der Form, im Durchmesser und in der Verflechtung von Fibrillen können bei diesen Kollagenabarten vornehmlich auf dem quartäreren Niveau festgestellt werden (1).

Im Ossein stellen die Fibrillen besonders große Strukturelemente dar, die mit dem unorganischen Knochenstoff eng verbunden sind.

In den letzten Jahren wird der Untersuchung der feinen Kollagenstruktur große Aufmerksamkeit geschenkt (2, 3, 4). Besonders eingehend sind die Mikrostruktur von Derma sowie die Strukturveränderungen studiert, die als Folge von verschiedenen Behandlungen vor sich gehen.

Die Untersuchungen haben ergeben, daß eine 4-tägige Behandlung von Rinderhäutederma mit Kalkmilch keinen Einfluß auf die elektronenmikroskopische Abbildung von Kollagen ausübt. Bestimmte Strukturverletzungen werden bei einmonatlicher und besonders auffallende Veränderungen bei zweimonatlicher Äscherung beobachtet. Nach zweijähriger Behandlung mit Kalkmilch verschwindet die charakteristische Periodizität der Kollagenstruktur völlig (2).

Eine Alkali-Salz-Behandlung mit Natronlauge in Anwesenheit von Neutralsalz ruft eine Strukturdesorientierung von Kollagenfibrillen in einer kürzeren Zeit hervor. Bei einer 24-stündigen Behandlung von Rinderhäutederma in einer 5% NaOH und 140 g/l  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  enthaltenden Alkali-Salz-Lösung wird noch eine geregelte Kollagenstruktur beibehalten, zum Teil wird auch die Querstreifung des Kollagens beobachtet. Bei einer 10%-gen Alkalikonzentration und 48-stündigen Behandlung werden nur strukturlose Fibrillen nachgewiesen (5).

In der vorliegenden Arbeit werden die Ergebnisse von Untersuchungen der feinen Osseinstruktur und der Veränderungen von Kollagen nach Alkali-Salz- und Kalkbehandlung mitgeteilt, die bei der Gelatineproduktion angewandt werden.

Das Ossein wurde in einer 30 g/l NaOH und 140 g/l Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> enthaltenden Lösung bei 20°C im Laufe von 21, 24, 48 und 72 Stunden behandelt, dann in der Schwefelsäurelösung in Anwesenheit von Natriumsulfat neutralisiert und mit Wasser bis völligem Verschwinden von SO<sub>4</sub><sup>---</sup>-Ionen aus Waschwasser gewaschen. Alle Osseinproben wurden in Ätheralkoholmischung getrocknet. Das behandelte und das Ausgangsossein wurden im Elektronenmikroskop IEM-7 bei beschleunigender Spannung 80 kW untersucht. Die Versuchspräparate wurden nach folgender Methodik vorbereitet: Mikrofragmente aus jeder Probe wurden auf ein elektrolytisches Netz mit Parlodiumunterlage durch einen mechanischen Kontakt übertragen. Zur Erhöhung der Schärfe in der elektronenmikroskopischen Abbildung wurde eine 2%-ige Pufferlösung der Phosphowolframsäure angewandt. Nach Waschen im destillierten Wasser und Trocknung an der Luft wurden die Präparate im Elektronenmikroskop beobachtet.

Auf der Elektronenmikroaufnahme des Ausgangsossein sind fadenartige Strukturelemente längst der Achse sowie eine für Kollagen charakteristische Querstreifung mit der Wiederholungsperiode von etwa 650 Å deutlich zu sehen. In den untersuchten Präparaten schwankt die Fibrillendichte von 800 bis 2000 Å. Eine teilweise Auflockerung von Kollagenfibrillen in den Ausgangspräparaten kann wahrscheinlich durch eine bestimmte Quellung von Kollagen unter dem Einfluß der Salzsäure bei der Knochendemineralisation erklärt werden (Abb. 1).

Im Elektronenmikroskop ist zu sehen, daß nach einer 12-stündigen Alkali-Salz-Behandlung die Schärfe der Querstreifung und der Fibrillendichte etwas verlorenght (Abb. 2).

Eine 24-stündige Osseinbehandlung führt zum weiteren Verlust der Strukturschärfe und zur Aufteilung von Fibrillen in kleinere Elemente. Die Querstreifung von Fibrillen verschwindet völlig (Abb. 3).

Bei der Behandlung bis 48-72 Stunden werden tiefe Verletzungen der fibrillären Kollagenstruktur verzeichnet (Abb. 4-5).

Der Grad der Fibrillenquellung und die Eiweißhomogenisation nehmen zu.

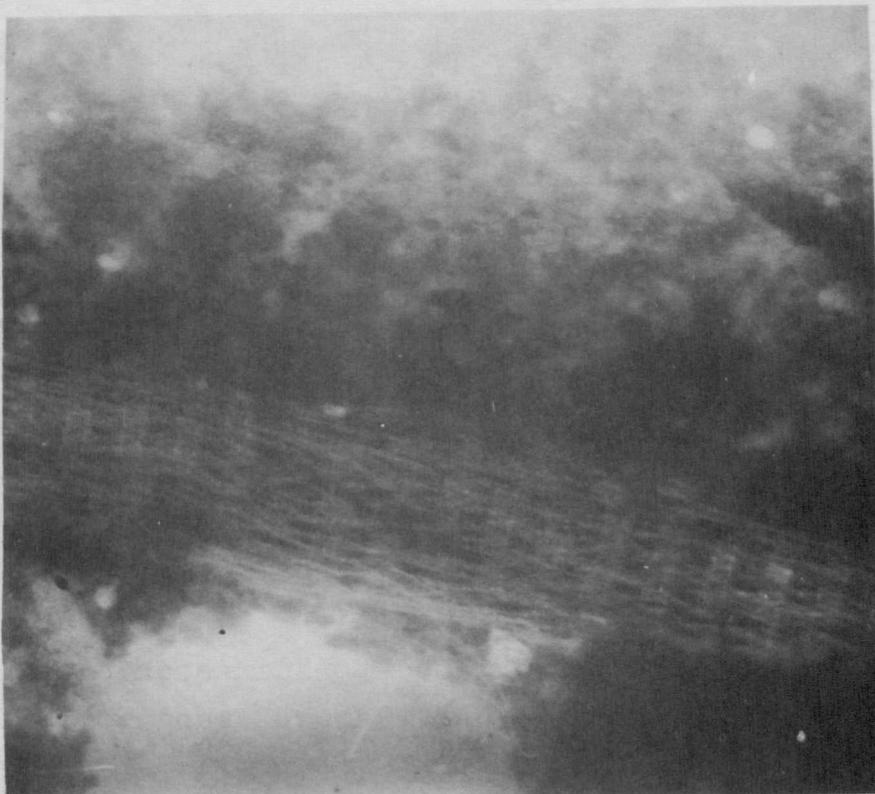


Abb. 1. Elektronenmikroaufnahme des Ausgangsosseins. Vergrößerung x 100000

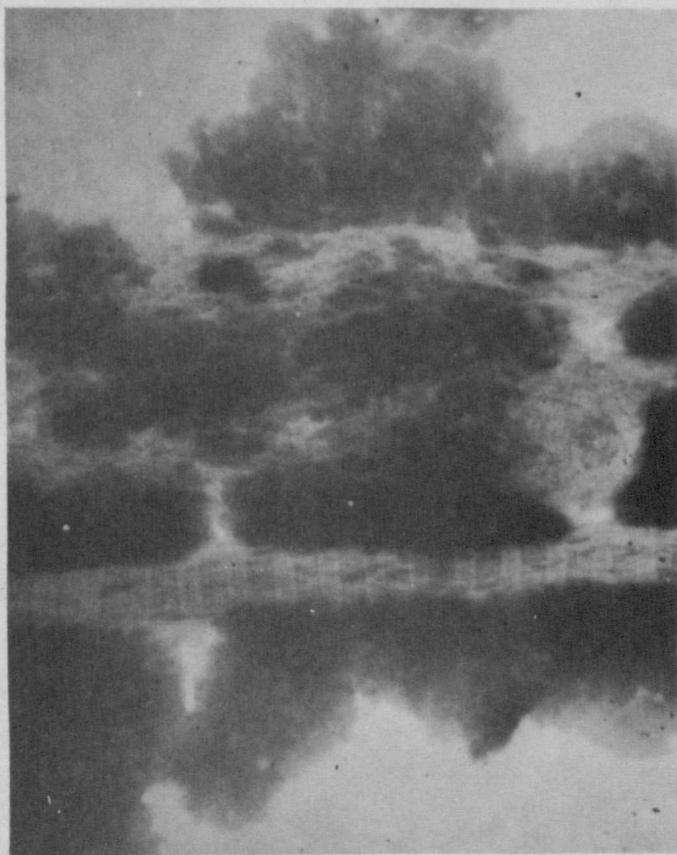


Abb.2. Elektronenmikroaufnahme des Osseins nach einer 12-stündigen Alkali-Salz-Behandlung. Vergrößerung x 100000

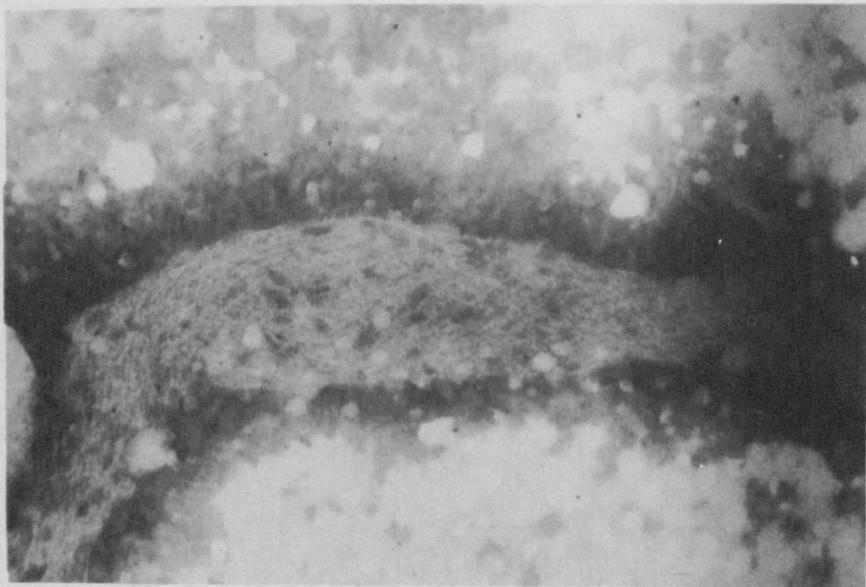


Abb. 3. Elektronenmikroaufnahme des Osseins nach einer 24-stündigen Alkali-Salz-Behandlung. Vergrößerung x 75000



Abb. 4. Elektronenmikroaufnahme des Osseins nach einer 48-stündigen Alkali-Salz-Behandlung. Vergrößerung x 75000



Abb. 5. Elektronenmikroaufnahme des Osseins nach einer 72-stündigen Alkali-Salz-Behandlung. Vergrößerung x 75000



Abb. 6. Elektronenmikroaufnahme des Osseins nach einer 30-tägigen Äscherung. Vergrößerung x 75000

Bei einer 30-tägigen Kalkäscherung nach der gewöhnlichen Technologie der Gelatineproduktion verliert die Kollagenstruktur ihre Querstreifung und verwandelt sich in eine lockere homogene Masse (Abb. 6).

Die obenerwähnten Veränderungen können mit einer bedeutenden Auflockerung der Kollagenstruktur erklärt werden, was durch die Zerstörung von verschiedenen intra- und intermolekularen Bindungen bedingt ist.

Der Vergleich von Elektronenmikroaufnahmen zeigt, daß der Grad der Desaggregation von Strukturelementen des Osseins von der Intensität der Alkali-Salz-Behandlung abhängt. Es kann auch angenommen werden, daß es kein bedeutender Unterschied im Charakter von Veränderungen der Osseinstruktur unter Einfluß von gesättigten  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - und  $\text{NaOH}$ -Lösungen in Anwesenheit von Natriumsulfat besteht. Es gibt aber einen großen Unterschied in der Dauer von Behandlungen, die zu analogen Strukturveränderungen führen.

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen bestätigen die früheren Angaben (6, 7) darüber, daß die Natronlauge dank einer höheren Konzentration von Hydroxylionen viel intensiver auswirkt, weil in der Lösung  $\text{NaOH} + \text{Na}_2\text{SO}_4$  ein höherer Grad der Desaggregation der Kollagenstruktur als in der Lösung  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  gesichert wird.

#### B I B L I O G R A P H I E

1. М и х а й л о в А.П. 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 с 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. Тузова Н.Н., Патрашев М.Н., Баблюк О.О. Исследование физико-химических и структурных изменений коллагеновой ткани методом дифференциального термического анализа. ХУЩ Конгресс работников НИИ мясной промышленности. 1972 (Канада).
7. Тузова Н.Н., Баблюк О.О. Исследование влияния щелочно-солевой обработки оссеина на превращение коллагена в желатин. ЦНИИТЭИмясомолпром. Экспресс-информация, клежелатиновая промышленность, 4, 1972.