

J/3

ХІХ ЕВРОПЕЙСКИЙ КОНГРЕСС РАБОТНИКОВ НИИ МЯСНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МЯСНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ СССР

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПОЛУЧЕНИЕ ПЛЕНОЧНЫХ
МАТЕРИАЛОВ ИЗ КОЛЛАГЕНСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

В.М.ГОРБАТОВ, О.О.БАБЛОЯН, Л.Р.БАЛОД, С.А.КАСПАРЬЯНЦ

THE XIXth EUROPEAN MEETING OF MEAT RESEARCH INSTITUTES

THE ALL-UNION RESEARCH INSTITUTE OF MEAT INDUSTRY USSR

PREPARATION OF FILMS FROM COLLAGEN-CONTAINING RAW MATERIALS AS
INFLUENCED WITH SOME TECHNOLOGICAL FACTORS

V.M.GORBATOV, O.O.BABLOYAN, L.R.BALOD, S.A.KASPARYANTS

DER XIX. EUROPÄISCHE KONGRESS DER FLEISCHFORSCHUNGSINSTITUTE

ALLUNIONS-FORSCHUNGSINSTITUT DER FLEISCHWIRTSCHAFT UdSSR

EINFLUSS EINIGER TECHNOLOGISCHEN FAKTOREN AUF DIE HERSTELLUNG
VON FOLIENMATERIALEN AUS KOLLAGENHALTIGEN ROHSTOFFEN

W.M.GORBATOW, O.O.BABLOJAN, L.R.BALOD, S.A.KASPARJANZ

А Н Н О Т А Ц И Я

На XVI, XVII и XVIII конгрессах были представлены данные о влиянии щелочно-солевых и кислотных обработок на структуру некоторых видов соединительной ткани, а также на аминокислотный состав исходного сырья и полученных из него пленочных материалов.

В докладе сообщается о возможности выработки пленочных материалов из продуктов растворения коллагена в зависимости от условий получения этих продуктов, их чистоты, а также об изучении кинетики потерь коллагена и выходе неколлагеновых белков в процессе обработки коллагенсодержащего сырья.

Исследованы свойства продуктов растворения коллагена в зависимости от продолжительности щелочно-солевых воздействий и процесса кислотной нейтрализации.

Оценку свойств продуктов растворения коллагена и искусственных материалов проводили методами вискозиметрии и электронной микроскопии.

Установлена зависимость вязкости продуктов растворения коллагена от параметров щелочно-солевой и кислотной обработок, определены условия получения пленочных материалов для пищевых и медицинских целей.

S U M M A R Y

At the XVith, XVIIth and XVIIIth Conferences data were presented on the effect of alkali-salt and acid treatments on the structure of certain connective tissues, as well as on the amine acid composition of the initial raw materials and of film materials prepared therefrom.

In this paper the possibility of producing films from the products of collagen solubilization, depending on the conditions, under which they are obtained, and their purity, is discussed, and a study into the kinetics of collagen losses and non-collagenous proteins yields during processing of collagen-containing raw materials is reported.

The properties of the products of collagen solubilization were investigated as related to the duration of alkali-salt treatment and of acid neutralization.

The properties of the products of collagen solubilization and artificial materials were evaluated by means of viscosimetry and electron microscopy.

A relation of the viscosity of collagen solubilization products to the parameters of alkali-salt and acid treatments, and the conditions for the preparation of film materials for food and medical purposes are determined.

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

Auf den XVI., XVII. und XVIII. Kongressen der Fleischforschungsinstitute wurden die Angaben über den Einfluß von Alkali-Salz- und Säurebehandlungen auf die Struktur von einigen Arten des Bindegewebes sowie auf die Aminosäurezusammensetzung von Ausgangsrohstoffen und von den daraus hergestellten Folienmaterialien angeführt.

In der vorliegenden Arbeit wird über die Möglichkeit der Herstellung von Folienmaterialien aus den Produkten der Kollagenauflösung in Abhängigkeit von Herstellungsbedingungen und der Reinheit dieser Produkte sowie über das Studium der Kinetik von Kollagenverlusten und die Ausbeute von nichtkollagenen Eiweißen bei der Verarbeitung von kollagenhaltigen Rohstoffen berichtet.

Die Eigenschaften von Produkten der Kollagenauflösung wurden in Abhängigkeit von der Dauer der Alkali-Salz-Einwirkung und der Säureneutralisierung untersucht.

Die Einschätzung der Eigenschaften von Produkten der Kollagenauflösung und von künstlichen Materialien wurde mit Methoden der Viskosimetrie und der elektronen Mikroskopie durchgeführt.

Es wurden die Abhängigkeit der Viskosität von Produkten der Kollagenauflösung von den Werten der Alkali-Salz- und Säurebehandlung festgestellt sowie die Bedingungen der Herstellung von Folienmaterialien für Ernährungs- und medizinische Zwecke bestimmt.

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПОЛУЧЕНИЕ ПЛЕНОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ ИЗ КОЛЛАГЕНСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

На предыдущих конгрессах (ХУІ, ХУІІ, ХУІІІ) сообщалось о работах института по щелочно-солевой обработке и растворению некоторых видов соединительной ткани, а также аминокислотному составу исходного сырья, продуктов растворения коллагена (ПРК) и полученных из него пленочных материалов /І-3/.

Степень растворимости и свойства получающихся продуктов растворения зависят от условий щелочно-солевой обработки коллагена, характера растворителя и режима растворения.

В настоящем докладе приведены данные по получению ПРК из лобешей шкур крупного рогатого скота и ахилловых сухожилий в зависимости от продолжительности щелочно-солевой обработки, процесса кислотной нейтрализации, а также данные по кинетике потерь коллагена и удаления неколлагеновых белков при подготовке исходного сырья к растворению.

Сырье после обводнения и промывки измельчали на кусочки размерами ІхІ см и подвергали щелочно-солевой обработке в течение 24, 36, 48, 64 и 72 час. при описанных выше условиях. Щелочно-солевая обработка сырья менее 24 час. не позволяет полностью перевести его в растворимое состояние. При обработке сырья свыше 72 час. получены ПРК с пониженной пленкообразующей способностью.

Гидролитическое действие щелочи на коллаген в значительной мере предотвращается присутствием соли. Едкий натр вызывает значительные изменения в структуре белка, зависящие от продолжительности обработки. Изменения выявлены методами электронной микроскопии и вискозиметрии.

На электронной микрофотографии (рис. І) исходного коллагена четко видна поперечная исчерченность фибрилл, характерная для нативного коллагена. На препаратах, приготовленных методом негативного контрастирования, выявляется также продольное разделение фибрилл коллагена на тонкие нити - протофибриллы. Нитчатый характер фибрилл присущ для зон А в то время как в более плотных зонах Б рассмотреть их, как правило, не удастся. Протофибриллы не строго параллельны оси фибриллы, друг другу и как бы скреплены обручами (зоны Б). В процессе щелочно-солевой обработки проис-

ходит полная дезагрегация фибрилл коллагена.

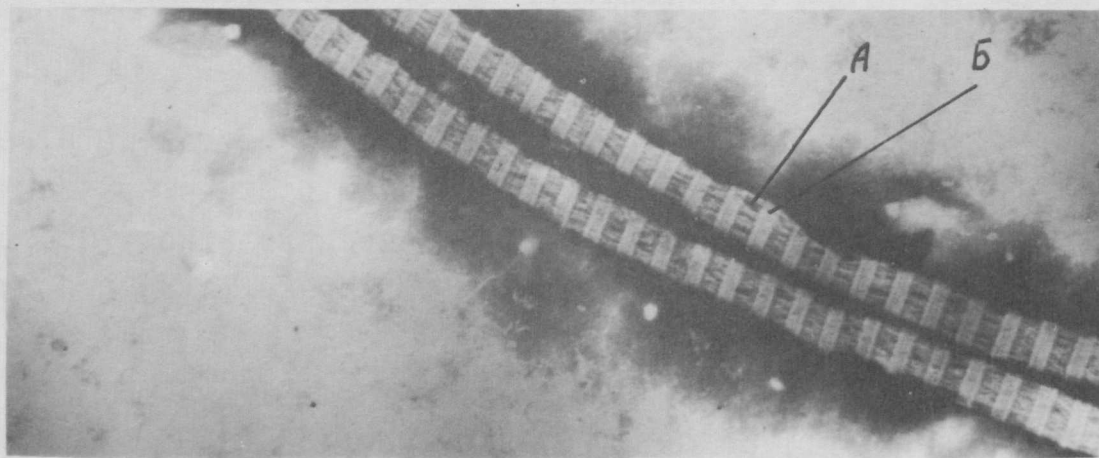


Рис. 1. Электронная микрофотография коллагена ахилловых сухожилий крупного рогатого скота

При обработке белка щелочно-солевым раствором в течение 24 час. происходит значительное разрыхление фибриллярной структуры коллагена, обусловленное переходом в раствор основной массы цементирующих веществ, а также разрушением внутри и межмолекулярных поперечных связей ковалентного типа, которые удерживали протофибриллы в латеральной ассоциации /4/. Эффект щелочно-солевой обработки на электронномикроскопических снимках проявляется в полном исчезновении "обручей", удерживающих протофибриллы, и превращении поперечно-исчерченных фибрилл в однородные структуры (рис. 2).



Рис. 2. Электронная микрофотография коллагена ахилловых сухожилий после 24-часовой щелочно-солевой обработки

Щелочно-солевая обработка коллагенсодержащего сырья обеспечивает удаление сопутствующих неколлагеновых белков, жиров и, частично, углеводов.

В таблице дан процент потерь белков от их общего содержания при обработке сухожилий и лобашей.

Т а б л и ц а

Вид обработки	Показатель	Длительность обработки, час.				
		24	36	48	64	72
<u>Потери белков при обработке сухожилий</u>						
Щелочно-солевая	Белок	1,93	4,17	4,68	5,09	5,27
	в т.ч. коллаген	0,68	0,81	1,12	1,41	1,64
Нейтрализация	То же	1,91	1,21	1,07	1,18	1,29
		0,62	0,53	0,51	0,53	0,72
Сумма потерь						
	Белок	3,84	5,38	5,75	6,27	6,56
	в т.ч. коллаген	1,30	1,34	1,63	1,94	2,36
<u>Потери белков при обработке лобашей</u>						
Щелочно-солевая	Белок	4,77	4,92	5,56	6,00	6,15
	в т.ч. коллаген	1,06	1,18	1,53	1,76	1,76
Нейтрализация	То же	1,29	1,24	1,20	0,82	0,92
		0,80	0,75	0,69	0,55	0,72
Сумма потерь						
	Белок	6,03	6,18	6,76	6,82	7,08
	в т.ч. коллаген	1,86	1,93	2,22	2,31	2,48

Как видно из данных таблицы, при увеличении продолжительности щелочно-солевой обработки возрастают количество удаляемых из сырья неколлагеновых белков и одновременно потери коллагена.

Увеличение продолжительности обработки свыше 36 час. для сухожилий и 48 час. для лобашей практически не влияет на количество удаляемого неколлагенового белка.

В процессе нейтрализации изучали применение серной и соляной кислот. Натриевые соли этих кислот легко растворимы и обеспечивают равномерное удаление щелочи из белка. Исследования показали, что величины чисел вязкости ПРК, полученных после нейтрализации

белка в 0,1 н. HCl выше, чем после использования 0,1 н. H₂SO₄ (рис. 3). Данные вискозиметрических исследований указывают на целесообразность использования для нейтрализации соляной кислоты.

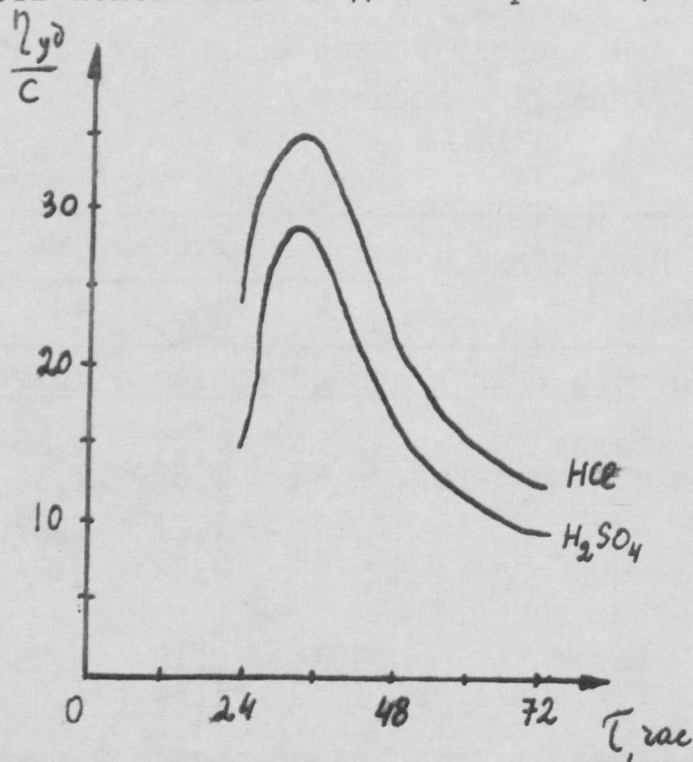


Рис. 3. Влияние вида нейтрализующих кислот на величину вязкости (0,5%-ных растворов ПРК в 0,5 н. CH₃COOH)

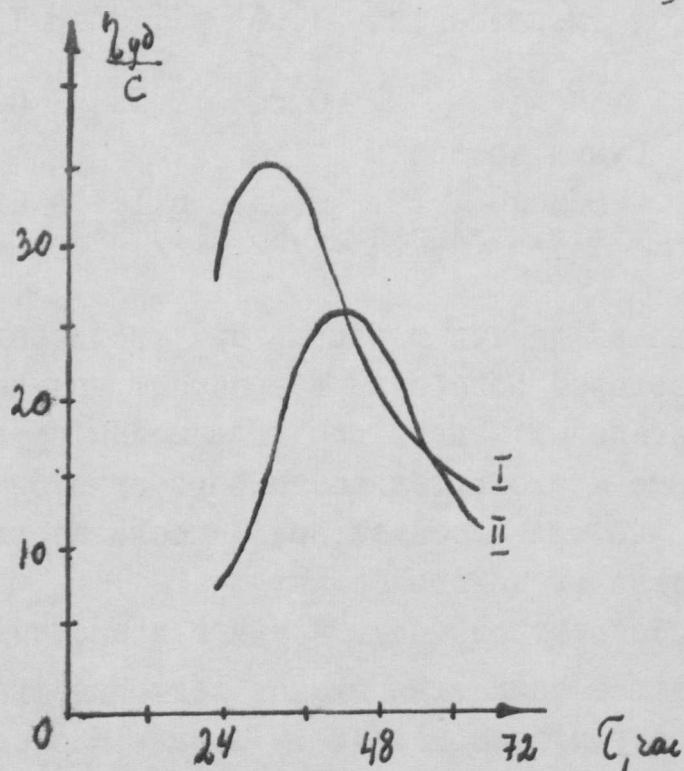


Рис. 4. Влияние длительности щелочно-солевой обработки на величину вязкости (0,5%-ных растворов ПРК в 0,5 н. CH₃COOH)

Оценка сравнительных данных (рис. 4, таблица) показала, что величины чисел вязкости получаемых ПРК в значительной мере зависят как от степени деструкции белковой молекулы, так и от наличия неколлагеновых примесей.

При обработке сырья щелочно-солевым раствором до 36 час. для сухожилий и до 48 час. для лобашей величины чисел вязкости ПРК возрастают по мере увеличения времени обработки. Это, вероятно, можно объяснить постепенным удалением примесей низкомолекулярных неколлагеновых белков, влияющих на вязкость растворов.

Длительная щелочно-солевая обработка вызывает резкое снижение вязкости растворов, что, по-видимому, свидетельствует об усилении гидролитического распада коллагена.

Из таблицы видно, что через 3-4 сут. щелочно-солевой обработки **сырья** потери коллагеновых белков происходят значительно быстрее, чем сопутствующих белков.

Несмотря на "жесткие" условия щелочной обработки, трехспиральная структура макромолекул коллагена сохраняется, о чем свидетельствуют физико-химические свойства ПРК: высокое значение предельного числа вязкости $[\eta]$ равняется 13-17 и удельное оптическое вращение $[\alpha]_{546}^{20^{\circ}\text{C}} = -470$, которые резко падают в температурном интервале 37-39°C.

Степень **асимметрии** частиц, рассчитанная по величине предельного числа вязкости (уравнение Симха) равна ≈ 200 . Константа седиментации для ПРК, полученных в 0,5 м уксусной кислоте после 36-48-часовой щелочно-солевой обработки составила $S = 2,85$ ед. Сведберга, а молекулярный вес по данным ультрацентрифугирования составляет $(3,2 \pm 0,7) \cdot 10^5$.

Продукты растворения коллагена, полученные по описанной технологии, по-видимому, представляют собой полидисперсную систему, состоящую в основном из трехспиральных палочкообразных частиц, эквивалентных по молекулярному весу растворам проколлагена.

Установлено, что из ПРК можно получать волокнистые и пленочные структуры осаждением при диализе и добавлением органических растворителей, нейтральных солей, дубителей, полисахаридов, а также фильерным **формованием**. В искусственных материалах из ПРК при электронной микроскопии обнаружены фибриллярные структуры с почти правильно повторяющимися элементами. Поперечная исчерченность, обнаруженная на реконституированных искусственных фибрил-

лах, не зависит от вида осадителей и имеет период повторяемости 150-300 A° (рис. 5); в пленочных материалах фибриллы имеют продольную филаментацию (рис. 6), схожую по своему характеру, с "упаковкой" протофибрилл в волокнах исходного коллагена, прошедшего щелочно-солевую обработку.



Рис. 5. Электронная микрофотография коллагеновых фибрилл, полученных реконституцией ПКК.

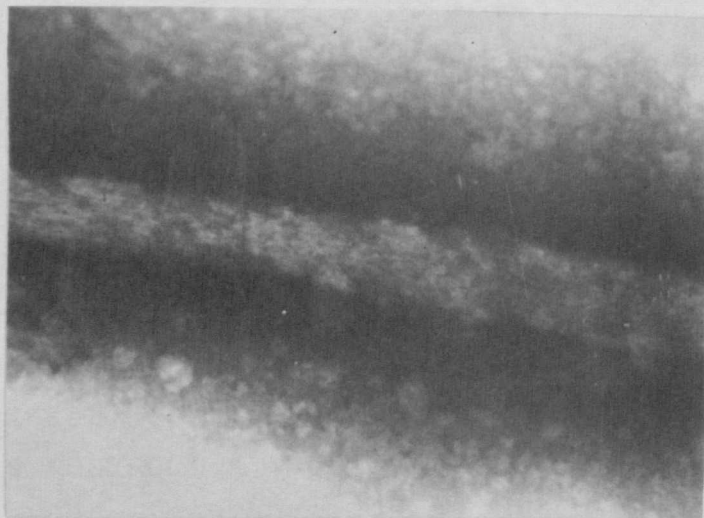


Рис. 6. Электронная микрофотография коллагеновых фибрилл в искусственных пленочных материалах

Возможность реконституции искусственных белковых структур из продуктов растворения "зрелого" коллагена служит не только подтверждением сохранения основных структурных единиц коллагена в процессе последовательной щелочно-солевой и кислотной обработок, но и указывает на практическую целесообразность использования ПРК для создания новых пленочных материалов для пищевых и медицинских целей.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Балод Л.Р., Каспарьянц С.А. Исследование дермы в процессе перевода ее в растворимое состояние. XVI Европейский конгресс работников НИИ мясной промышленности, София, 1970, 914.
2. Горбатов В.М., Каспарьянц С.А., Балод Л.Р. Исследование аминокислотного состава некоторых видов соединительной ткани в процессе растворения и реконституции. XVII Европейский конгресс работников НИИ мясной промышленности, Лондон, 1971.
3. Горбатов В.М., Каспарьянц С.А., Балод Л.Р. Изучение структурной стабильности коллагена методами инфракрасной спектроскопии и электронной микроскопии. XVIII Европейский конгресс работников НИИ мясной промышленности, Канада, 1972.
4. Баблюян О.О., Шешов Т.И., Истранов Л.П., Каспарьянц С.А., Переверзев Н.А. Электронномикроскопические исследования изменений структуры коллагена в результате щелочно-солевой обработки. "Изв.вузов". "Технология легкой промышленности", 4, 1966, 92-95.
5. Каспарьянц С.А., Баблюян О.О., Шестакова И.С. Электронномикроскопические исследования изменений коллагена в процессе растворения и реконституции, современные биохимические и морфологические проблемы соединительной ткани. Изд. "Наука" Сибирское отделение, Новосибирск, 1971, 61-64.