

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

А. Л. ЗАЙДЕС и А. Н. МИХАЙЛОВ

О ТЕПЛОВОЙ ДЕНАТУРАЦИИ (СВАРИВАНИИ)
ОБВОДНЕННОГО КОЛЛАГЕНА

(Представлено академиком П. А. Ребиндером 18 X 1952)

Коллаген — волокнистый белок дермы кожного покрова — отличается от других волокнистых белков способностью сокращаться в воде при определенной температуре. Это явление сокращения коллагена в горячей воде называют «свариванием», а температуру, при которой происходит сваривание, — температурой сваривания.

При сваривании химический состав коллагена не меняется, но изменяются его структура и свойства. По рентгенограммам сваренных лучков коллагеновых волокон можно констатировать нарушение упорядоченности в расположении молекулярных цепей (1). Кроме того, при сваривании наблюдается сдвиг изоэлектрической точки в сторону более высоких значений pH, резкое уменьшение прочности и увеличение способности к перевариванию ферментами.

Сваривание коллагена аналогично плавлению кристаллов, температура плавления которых снижена растворенными в их структуре посторонними веществами. В случае коллагена таким веществом является вода. В отличие от плавления обычных кристаллических тел, при сваривании коллагена нарушается только часть связей между молекулами в белковой структуре.

Вопрос о характере изменений белковой молекулы при тепловой денатурации остается до настоящего времени нерешенным. Шербулье, Жанера и Мейер (2) считают, что при обработке коллагеновых волокон горячей водой происходят два процесса: 1) плавление кристаллита и 2) гидролиз.

Большинство же авторов в настоящее время склоняется к тому мнению, что при сваривании наблюдается только нарушение межмолекулярного взаимодействия в тонкой структуре коллагена; особенно большое значение имеет нарушение водородных связей (3).

Этот вывод делается на том основании, что способность к связыванию кислоты после сваривания почти не меняется. Однако определение кислотной емкости не может служить надежным критерием отсутствия гидролиза.

Кислотная емкость в основном зависит от числа остатков лизина, аргинина и гистидина в структуре белка. В условном участке структуры коллагена с молекулярным весом 100 000 содержится 99 боковых цепей основного характера (4). Разрыв такого участка пополам приводит к увеличению числа основных групп на 1 единицу, т. е. вместо 99 основ-

ных групп образуется 100, при этом кислотная емкость должна увеличиться только на 0,01 мг-экв. на 1 г белка.

Наши данные по потенциометрическому титрованию соляной кислотой сваренного и несваренного гольевого порошка показали, что кривые титрования не совпадают между собой (см. рис. 1). При одном и том же значении pH сваренный коллаген поглощает большее количество кислоты, чем несваренный. Кислотная емкость, рассчитанная по этим кривым, для несваренного коллагена составляет 0,92 мг-экв. на 1 г гольевого вещества, для сваренного — 1,01 мг-экв. Такое увеличение кислотной емкости может быть связано с гидролизом главных цепей.

К последнему выводу заставляют нас прийти и полученные нами результаты по электронно-микроскопическому исследованию сваренного коллагена.

Образцы для наблюдения в электронном микроскопе готовились двояким образом: 1) микротомные срезы необработанного коллагена подвергались диспергированию ультразвуком в воде при частотах около 9 кгц в течение 5 мин. и полученная коллагеновая дисперсия сваривалась кипячением в воде в течение 3—5 мин.; 2) кусок нативного коллагена кипятится в воде 5 мин., затем после охлаждения из него готовились микротомные срезы, которые подвергались озвучиванию в тех же условиях, что и по первому варианту.

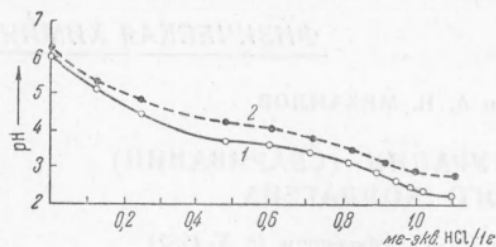


Рис. 1. Кривые потенциометрического титрования гольевого порошка. 1 — несваренный гольевой порошок, 2 — сваренный гольевой порошок

Дисперсия необработанного коллагена состоит из длинных фибрилл с правильно чередующимися поперечными участками разной плотности⁽⁵⁾. В дисперсии, сваренной по первому методу, сравнительно мало длинных волоконцев. Если они и есть, то лишены характерной полосатости. Наряду с длинными фибриллами наблюдаются их короткие обрывки протяженностью порядка 0,2—1,0 μ (см. рис. 2). Они расщеплены на концах. Продольное расщепление на отдельные нити особенно хорошо видно на рис. 3.

При наблюдении дисперсии, сваренной по второму методу, наблюдаются, наряду с нормальными фибриллами коллагена, характеризующимися поперечной исчерченностью, еще обрывки фибрилл тех же размеров, что и в дисперсии, приготовленной по первому методу (см. рис. 4). Это указывает, что как в том, так и в другом случае имеет место разрыв фибрилл по длине, однако сваривание в монолитном куске не идет равномерно по всей толщине. Можно предположить, что разрыв по длине волокна должен осуществляться по пептидным связям.

Полученные результаты позволяют объяснить поведение коллагена, сваренного в воде.

Прочность на разрыв сваренного коллагена резко падает по сравнению с несваренным и практически может дойти до нуля. Если бы имело место только искривление цепей без их разрыва, то можно было бы ожидать менее значительного ослабления прочности за счет нарушения водородных связей между цепями. Резкое падение прочности может быть объяснено только нарушениями структуры самой цепи. Далее, гидролиз главных цепей приводит к увеличению числа активных групп, способных связываться с кислотами, дубителями.

В результате мы имеем некоторое увеличение кислотной емкости сваренного коллагена по сравнению с коллагеном, не подвергшимся термической обработке.

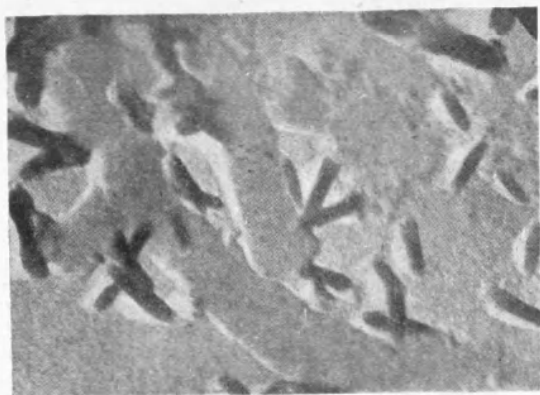


Рис. 2. Электронная микрофотография дисперсии коллагена, сваренного после диспергирования.
× 12 000



Рис. 3. Продольное расщепление коротких сегментов сваренной дисперсии. Электронная микрофотография.
× 12 000

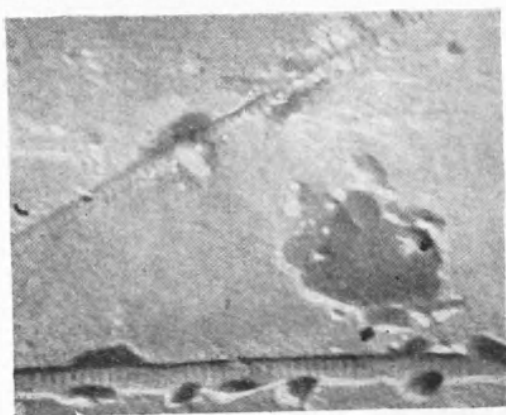


Рис. 4. Электронная микрофотография дисперсии коллагена, сваренного до диспергирования.
× 19 000

Резюмируя, мы должны констатировать, что при сокращении коллагена в горячей воде происходит, наряду с разрывом водородных связей между полипептидными цепями, также и разрыв самих цепей, по-видимому, по пептидным связям.

Центральный научно-исследовательский институт
кожевенно-обувной промышленности
МЛП СССР

Поступило
13 X 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ А. Л. Зайдес, Сборн. работ ЦНИКП, № 15, 129 (1947). ² E. Cherbulier, J. Jeannerat, K. Meuer, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem., 255, 241 (1938).
³ А. Н. Михайлов, Физико-химические основы технологии кожи, 1949, стр. 160; Н. В. Чернов, С. А. Павлов, И. М. Лечицкий, И. С. Шестакова, Курс технологии кожи, 1946, стр. 76; Г. И. Кутянин, ДАН, 82, 405 (1952). ⁴ А. Н. Михайлов, Физико-химические основы технологии кожи, 1949, стр. 77. ⁵ А. Л. Зайдес, С. Л. Пупко, ДАН, 65, 227 (1949).