

О КОЛЛАГЕНЕ И ГИДРОЛИЗАТАХ КОЛЛАГЕНА ДЕРМЫ

Биштаков Р.Б.¹, Гарифуллина Р.А.², Садыкова Г.У.³, Ломакин С.П.⁴

*¹Биштаков Роман Борисович – аспирант Технологического факультета
Уфимского Государственного Нефтяного Технического Университета*

*²Гарифуллина Радда Алмазовна – студент магистратуры Технологического
факультета Уфимского Государственного Нефтяного Технического
Университета*

*³Садыкова Гульназ Ураловна – студент магистратуры Технологического
факультета Уфимского Государственного Нефтяного Технического
Университета*

*⁴Ломакин Сергей Петрович – доцент Технологического факультета
Уфимского Государственного Нефтяного Технического Университета
Уфа, Российская Федерация*

Аннотация: в статье рассказывается о свойствах коллагена, его источниках, особенностях получения гидролизатов коллагена в различных средах, влиянии раствора гидролиза на структуру молекулы, а также применении гидролизатов.

Ключевые слова: коллаген, кислотный гидролиз коллагена, основной гидролиз коллагена, ферментативный гидролиз коллагена, применение коллагена.

ABOUT COLLAGEN AND HYDROLYSATES OF DERMA COLLAGEN

Bishtakov R.B.¹, Garifullina R.A.², Sadykova G.U.³, Lomakin S.P.⁴

*¹Bishtakov Roman Borisovich – graduate student of the Faculty of Technology, Ufa
State Oil Technical University*

*²Garifullina Radda Almasovna – student of magistracy of the Faculty of Technology,
Ufa State Oil Technical University*

*³Sadykova Gelnaz Uralovna – student of magistracy of the Faculty of Technology,
Ufa State Oil Technical University*

*⁴Lomakin Sergey Petrovich – docent of the Faculty of Technology, Ufa State Oil
Technical University
Ufa, Russian Federation*



Abstract: *the article describes the properties and sources of collagen, the peculiarities of obtaining collagen hydrolysates in various solutions, the effect of a hydrolysis solution on the structure of the molecule, use of hydrolysates.*

Keywords: *collagen, acid collagen hydrolysis, basic collagen hydrolysis, enzymatic collagen hydrolysis, collagen application.*

УДК 54.057

Коллаген – это белок нитевидной структуры, являющийся основой соединительной ткани (кости, хрящи, дерма, сухожилия). Коллаген изучался с 1930-х годов, в результате чего стало известно строение каждой отдельной пептидной цепи и разработана модель строения этого белка. Молекулярную массу принято исчислять в Да (Дальтон 1/12 массы свободного покоящегося атома углерода ^{12}C , находящегося в основном состоянии), она составляет 300 кДа.

Структурной единицей коллагена является трипептид коллаген, состоящая из 3-х скрученных полипептидных цепей, в каждой из которых порядка 1000 аминокислот, размер молекулы трипептидколлагена составляет 380 x 1,5 нм.

Отличительной чертой состава данного белка считается то, что 1/3 всех его аминокислотных остатков – глицин, около 20% составляет пролин и оксипролин, можно встретить оксипролин. Количество серосодержащих и ароматических аминокислот очень невелико [1].

Продуктом денатурации коллагена является желатин. В процессе нагревания коллагена идет плавление полипептидных цепочек и разрыв связей между ними. При 50..55 °С коллагеновые волокна набухают, поглощая воду; при 58...62 °С резко сокращается размер волокна (до 60%). Полный гидролиз коллагена проходит при 126 °С на протяжении 3-х часов. Также на процесс денатурации оказывает влияние рН среды, как кислотная, так и щелочная [2].

В последнее время исследования показали, что температура денатурации коллагенов довольно точно соответствует содержанию пирролидиновых остатков (пролина и оксипролина) [1].



Состав желатина близок к составу коллагена: глицин (около 27%), пролин (около 16%), оксипролин (около 14%), глутаминовая кислота (около 12%), аргинин (около 9%), лизин (около 5%) [3].

Коллаген применяется в разных областях промышленности:

- 1) пищевая промышленность – производство пищевых добавок;
- 2) косметические средства – используется для удержания влаги и входит в состав сложных косметических композиций;
- 3) медицина – используется для синтеза различных веществ (в промежуточных стадиях), в качестве катализатора;
- 4) фотохимия – для восстановления растворов металлов (Ag) и как основа для фотографической желатины [4].

В химии адсорбционных веществ значимую позицию может занять гидролизат коллагена, сорбция в котором происходит за счет наличия в белке большого количества пептидных связей, образованных в результате взаимодействия α -аминогруппы $-\text{NH}_2$ одной аминокислоты и α -карбоксильной группой $-\text{COOH}$ другой аминокислоты.

При гидролизе коллагена происходит разрыв пептидных связей. В результате чего гидролизат коллагена содержит аминокислоты глицин, пролин, оксипролин и оксилизин, которые, как и все аминокислоты, могут взаимодействовать со щелочами (по группе $-\text{COOH}$) и с кислотами (по группе $-\text{NH}_2$), а с ионами тяжелых металлов аминокислоты образуют сложные комплексы. А взаимодействие с солями открывает довольно большой спектр возможностей.

Сложность в применении гидролизата коллагена обусловлена его приготовлением. В качестве сырья для получения гидролизата может быть использована КРС (кожа рогатого скота) или другой коллагеносодержащий материал, однако даже после должной обработки сырье содержит в себе большое количество примесей, влияющих на его функциональность.

Опираясь на большое количество источников, можно выделить три стадии подготовки гидролизата коллагена:



- 1) первичная подготовка сырья, в которую входит обезволаживание и измельчение КРС;
- 2) обработка кислотами и/или щелочами, с удалением нежелательных примесей (глобулярных белков, влаги);
- 3) гидролиз коллагеносодержащего сырья.

Коллагеносодержащее сырье (обычно в качестве сырья взяты гольевая обрезь или гольевой спилок, либо обезволенная и измельченная КРС) подвергают промывке в течение определенного времени для набухания, щелочной и/или кислотной обработке для удаления всех нежелательных примесей и последующему выравниванию рН среды.

Согласно патенту [5], осуществляется щелочно-солевая обработка. Затем обработка раствором, содержащим 3% NaOH, 2% раствором Na_3PO_4 и 3% раствором H_2O_2 , обработка ведется в течение 7-12 ч. С поддержанием рН 11,5-12,5. Затем проводится промывка водой до рН 7-8, затем обработка раствором соляной кислоты 15%, поддерживая рН 3,6-4,2 в течение 6-7 ч. В течение 5-6 ч поодерживают рН раствора 2,0-2,4 для достижения рН среза сырья 6,0-6,5.

Следующий способ обработки патент RU 2173709 [6] включает в себя промывку водой, гидротермообработку, золение и нейтрализацию. Проводят обессоливание 0,1-0,5% раствором серной кислоты, затем гидротермообработку осуществляют в течение 10-15 минут в 2-3% растворе перекиси водорода, золение в течение 8-10 часов раствором едкого натра 2-2,5%, с последующим выравниванием до рН 7,0.

Зольная жидкость может содержать в себе такие соли, как: $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$, Na_2S , $\text{Ca}(\text{OH})_2$, гидроксиэтилированного карбоксиметилированного крахмала, полиэтиленгликоля полиакрилонитрила и мн. др. [7,8]

Известны способы ферментативного получения коллагена со специальной предварительной водоподготовкой и охлаждением льдом. Например, обработка подготовленного сырья алколазой с последующим выделением коллагена [9] или же двухстадийное выделение коллагена, где на первой стадии применяется



липаза из гриба *Rhizopus oryzae*, а на второй стадии используют протеолитический фермент в виде нейтральной протеазы [10].

Существуют как зольная обработка хромовых кож, где предварительно проводится обработка гидроксидом кальция, а затем хром и кальций вымываются током диоксида углерода [11], также и ферментативная обработка [12] в четыре стадии с переменным воздействием кислот и ферментов.

Обработка сырья очень важна, но при этом каждый из способов обработки неизбежно приводит к снижению функциональности, а в дальнейшем будет влиять на чистоту эксперимента.

Было выяснено, что чем дольше проводится щелочно-солевая обработка, тем большей деструкции подвергаются частицы коллагена [13].

К сведению, существует несколько способов получения гидролизата коллагена: щелочной, кислотный и ферментативный.

При щелочном гидролизе чаще всего используют гидроксид натрия, тогда как при кислотном используют более широкий ассортимент кислот: уксусную, щавелевую, молочную, муравьиную и др.

Результатом кислотной и щелочной обработки являются олигомеры, но кислотные продукты разложения коллагена имеют большую молекулярную массу [13].

При использовании разбавленных кислот гидролиз коллагена более специфичен, с чем при использовании кислот высокой концентрации, при этом необходимо учитывать температуру и время процесса гидролиза [13, 14, 15].

В кислой среде благодаря протонированию карбоксильные группы становятся незаряженными, а положительно заряженные аминокислотные группы придают белку положительный заряд; в щелочной среде наоборот [16].

При действии кислот и щелочей на коллаген происходит также химическое связывание их с аминными и карбоксильными группами белка; чаще всего этот процесс обратим, но в случае обработки гидроксидом кальция, кальций блокирует два заряженных центра (-COO⁻). Водородные связи, присутствующие в большом количестве в коллагене нарушаются, а при сильном взаимодействии



кислотами и щелочами возможно нарушение ковалентных связей (гидролиз пептидных групп).

Соли могут оказывать различное влияние:

- 1) взаимодействие ионов соли, которое приводит к ослаблению межмолекулярных связей в структуре белка. Местом присоединения соли к белку, в первую очередь, являются боковые amino- и карбоксильные группы, а также возможно гидроксильные группы. Возможно адсорбция солей пептидными группами;
- 2) усиление межмолекулярного взаимодействия в коллагене за счет обезвоживающего действия аниона или катиона соли. Например, при малых концентрациях NaCl (до 2%) коллагеносодержащая дерма способна к набуханию, а при больших (более 5%) оказывается обезвоживающее действие [14, 16].

Ферментативный способ гидролиза достаточно дорогостоящий, в нем применяются различные сложные структуры белка, которые могут ускорить ту или иную реакцию, для выделения конкретной аминокислоты. Примерами ферментов являются: пепсин, эластаза, гидразин. В основе действия каждого фермента лежат два аспекта: каталитический механизм и специфичность к субстрату [17].

Химические методы, основанные на ферментативном способе гидролиза, позволяют достичь избирательного гидролиза, в результате которого осуществляется высокоспецифичный разрыв пептидных связей, образованных определенными аминокислотами, не затрагивая остальные пептидные связи: цианогенбромид, гидроксилламин, N-бромсукцинимид [18].

Коллаген и его гидролизаты в химии обладают очень большим потенциалом: гидролизаты коллагена являются сырьем для косметики и фармакологии, органической химии и хроматографии, также гидролизаты – экологически чистое и экономически выгодное сырье, что в современном мире является одним из главных стимулов в применении данного вещества.

Список литературы



1. Введение в биофизическую химию. Р. Мартин. 1966 г. 429 с. (стр. 249-250).
2. Денатурация и деструкция коллагена. [Электронный источник] - URL: https://studopedia.su/20_66300_denaturatsiya-i-destruktsiya-kollagena.html (Дата обращения 23.02.2021).
3. Краткая химическая энциклопеди. Ж – Малоновый эфир. Под ред. Кнунянц И.Л., Бахаровский Г.Я. (стр. 15-17).
4. Химия твердого состояния. Под ред. В. Гарнера. 1961 г. (стр 429-430).
5. Патент RU 2588440.
6. Патент RU 2173709.
7. Патент RU 2174150.
8. Патент RU 2174151.
9. Патент RU 2094999.
10. Патент RU 2272808.
11. Патент ГДР 226153.
12. Патент RU 2249047.
13. Свойства продуктов гидролиза коллагена. Ю. В. Тихонова, Л.Г. Кривоносова, С.П. Ломакин, Э.С. Филатова, Р.Р. Хабибуллин. Башкирский химический журнал. Т. 16, 2009 г. (стр. 13-15).
14. Исследование процесса гидролиза коллагена при умеренно низкой температуре. Кодиров Т.Ж., Тешев А. Ю., Содиков Н.А. Кожа и мех в XXI веке: технология, качество экология, образование. 2016 г. стр 33-39.
15. Коллаген в растворах электролитов. Махмудов Л.Э., Алиева Н.И., Каримов М.М. “Young chemist” #14 (94) July 2015 стр. 33-37.
16. Вайсбергер А. Н. Установление структуры органических соединений физическими и химическими методами. Т. 2 (стр. 392-394).
17. Дикерсон Р.Е. Основные законы химии. Т. 2. (стр. 318).
18. Березов Т.Т. Биологическая химия. Изд. 3. (стр. 55-56).

