

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА КОЛЛАГЕНОВЫХ БЕЛКОВ РЫБНОГО И ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Л. В. Антипова, С. А. Сторублевцев

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

Поступила в редакцию 28.09.2016 г.

Аннотация. В статье приведены данные исследований химического, фракционного состава, структурных особенностей коллагеновых субстанций, выделяемых из источников животного происхождения и гидробионтов. Выявлены отличия как в сырье для получения коллагена (химический состав, выплавляемость желатина), так и в субстанциях, получаемых из источников коллагена животных и рыб (молекулярно-массовом распределении белковых фракций, аминокислотном составе и др.). На основании проведенных исследований сделаны выводы о различии в свойствах коллагенов животных и рыб и возможных прикладных аспектах.

Ключевые слова: коллаген, гольевой спилки, шкуры рыб, свойства, аминокислотный и фракционный состав

Abstract. Data of researches of chemical, fractional composition, structural features of the collagenic substances emitted from sources of animal origin and hydrobionts are provided in article. Differences as in raw materials for receiving a collagen (chemical composition, a gelatin vyplavlyаемость), and in the substances received from sources of a collagen of animals and fishes are taped (molecular-mass distribution of protein fractions, amino-acid structure, etc.). On the basis of the conducted researches conclusions are drawn on difference in properties of collagens of animals and fishes and possible applied aspects.

Keywords: collagen, split, skins of fishes, properties, amino-acid and fractional structure.

Современный уровень знаний структуры, биологических функций и свойств коллагеновых белков свидетельствует об их уникальности и чрезвычайной распространенности на различных уровнях жизненной организации. Фундаментальные исследования коллагеновых белков животного происхождения привели к прорыву в биомедицинской практике, лечении тканевых ран, получении медицинских средств и специального питания для коррекции физиологических состояний, а так же в косметологии для омоложения, поддержания эстетических эффектов и лечения последствий пластических операций. [1,2]. Мировой опыт производства препаратов и средств кол-

лагеновой природы базируется на использовании гольевого спилки шкур крупного рогатого скота, получаемого при переработке сельскохозяйственных животных.

Падение объемов российского производства мяса, известная ситуация с распространением бешенства животных в европейских странах, санкции ЕЭС в отношении России создали весьма неблагоприятные условия для реализации производства таких биологических препаратов. В тоже время появились сведения [1,2,5,6,7] о чрезвычайно важных свойствах коллагеновых белков рыбного происхождения и перспективах их применения в альтернативных биомедицинских технологиях. Однако сведения о них ограничены, не конкретизированы и требуют детализации приме-

нительно к рыбам различных видов в средах обитания, в том числе внутренних водоемов, которые получили широкое распространение в сельском хозяйстве, в том числе в Воронежской области.

Цель данной работы состоит в выделении и идентификации коллагенов гидробионтов и исследовании структурных особенностей и свойств этих объектов в сравнении с коллагенами животных, полученных из гольевого спилка крупного рогатого скота по известной технологии в условиях ЗАО «Лужский завод «Белкозин» (г. Луга, Ленинградская область).

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе экспериментальных исследований в качестве объектов исследования использовали шкуры рыб внутренних водоемов, наиболее распространенных видов Центрально-Черноземного региона: толстолобик, сазан, белый амур, щука (pike, sazan, silvercarp, herring, humpbacksalmon, salmon).

Коллагеновые рыбные дисперсии получали в лабораторных условиях по разработанной нами технологии и определяли общий химический состав, фракционный состав белков на основании их растворимости по методам [3], аминокислотный состав – методом ионообменной хроматографии на автоматическом аминокислотном анализаторе ААА-881 (Чехия) в соответствии с инструкцией к прибору. Электрофоретическую подвижность и молекулярную массу аминокислот определяли на установке вертикального электрофореза в денатурирующих условиях с использованием маркерных белков AppliChem (ProductNo.A4402), структурные особенности – методом атомно-силовой микроскопии [4]. Физико-химические свойства рыбных коллагенов, имеющих практическое значение в получении лекарственных средств, определяли в соответствии с фармакопейной статьей предприятия (ФСП-42-1221-06 1).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения общего химического и фракционного состава белков представлены в табл. 1, 2.

При выделении коллагеновых белков рыбные шкуры подвергали перекисно-щелочной обработке. диспергированию в присутствии уксусной кислоты и использовали в дальнейших исследованиях. Сравнительные данные представлены в табл.3.

Таблица 1
Общий химический состав источника рыбного и животного происхождения

Наименование образца	Массовая доля компонентов, % к массе сырья			
	Белок	Жир	Зола	Влага
Гольевой спилки шкур КРС	23.40	1.10	0.90	74.0
Шкуры рыб:				
Карп	18.00	4.60	1.40	76.00
Щука	19.77	1.02	1.20	78.01
Сазан	25.67	5.80	1.12	68.03
Толстолобик	25.11	4.19	1.18	69.52
Горбуша	19.25	4.57	1.31	74.87

Таблица 2
Фракционный состав шкур рыб (на примере карпа) и спилка. КРС

Сырье	Массовая доля белковых фракций, % к массе белка		
	Водорастворимая	Солерастворимая	Щелочерастворимая
Гольевой спилки КРС	5.5	9.5	85.00
Шкуры рыб			
Карп	9	11.90	79.10
Щука	5.74	9.56	84.70
Сазан	5.49	9.16	85.35
Толстолобик	3.47	5.79	90.73
Горбуша	5.09	8.49	86.42

Таблица 3
Сравнительные данные коллагенов рыбного и животного происхождения

Показатель	Субстанция 2%-ный раствор (спилки КРС)	Субстанция 2%-ный раствор (шкура толстолобика)
Подлинность	Окрашивание в фиолетовый цвет	Окрашивание в фиолетовый цвет
Прозрачность	Прозрачный	Прозрачный
Цветность	0.1% раствор коллагена в воде бесцветен	0.1% раствор коллагена в воде бесцветен
pH	3.2	4.2
Массовая доля сухих веществ	1.85%	1.76%
Микробиологическая чистота	Категория 1.2. Б	Категория 1.2. Б
Массовая доля коллагена (по оксипролину)	1.75	0.92

Из полученных нами результатов следует, что коллагеновые субстанции отличаются лишь по содержанию оксипролина – структурного признака

животных коллагенов. При близком значении массовой доли сухих веществ это указывает на вероятные отличия в структуре белков.

Сравнительный анализ фракционного состава белков субстанций указывает на отсутствие препятствий в масс-молекулярном исследовании, результаты которого показали (рис. 1), что тестируемые объекты имеют отличия в электрофоретической подвижности фракций: для коллагенов из спилка крупного рогатого скота характерна миграция фракций в области свыше 212 кДа. Имеются фракции, мигрирующие в области, соответствующей диапазону 66-212 кДа, что может быть связано с наличием минорных компонентов и сопутствующих белков. Судя по интенсивности окраски и ширине полос, их содержание незначительно. Это указывает на то, что даже в условиях денатурирующего электрофореза основную массу составляют высокомолекулярные белки, для которых не характерна четвертичная структура. Для образца, полученного из рыбной шкуры, так же наблюдается миграция мономеров в высокомолекулярной области, однако, количество этих фракций значительно меньше. Основная часть белков этого объекта мигрирует в области 212 кДа, присутствует большое количество фракций в области от 45 до 212 кДа. Это свидетельствует, вероятно, о том, что структура рыбного коллагена стабилизируется менее прочными связями, либо в своем составе имеет более низкомолекулярные фракции. Аналогичные результаты показаны польскими учеными [4], доказавшими, что рыбные коллагены ограничиваются структурой тропоколлагенов и поэтому легко проникают в дермальные слои кожи, оказывая биологически более сильное воздействие.

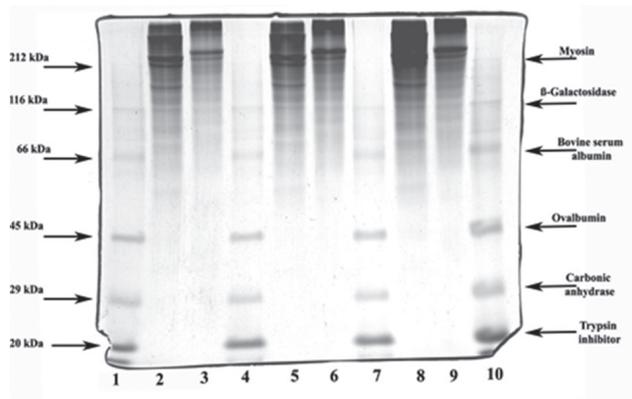


Рис. 1. Электрофореграммы коллагеновых субстанций животного и рыбного происхождения: дорожки 1,4,7,10 – маркеры молекулярной массы; дорожки 2,5,8 дорожки – образце полученный из кожи рыб; дорожки 3,6,9 – образец, полученный из спилка шкуры КРС

Результаты определения выплавления желатина из источников получения коллагеновых субстанций-спилка крупного рогатого скота (КРС) и шкуры толстолобика представлены в табл. 4.

Таблица 4
Скорость выплавления желатина из источников коллагеновых субстанций спилка КРС и шкуры толстолобика

Виды отходов	Выплавленный желатин, % от сухого вещества			
	Время обработки, мин			
	15	30	45	60
Гольевой спилок шкур КРС (по Сапозжниковой А.И., Месроповой Н.В.)	36.29	55.62	73.88	88.01
Шкура толстолобика	42.88	72.12	84.96	86.0

Структурные особенности объясняют отличия в физико-химических свойствах. Нами показано (табл. 4), что рыбные коллагены характерны высокой скоростью и полнотой выплавления желатина коллагена в рыбных объектах, доказывающих наличие менее стабильных химических связей.

Исследуемые белки имеют отличия в их аминокислотном составе (табл. 5).

Результаты доказывают, что в объекте, выделенном из рыбных источников, меньшее содержание оксипролина, но почти в 2,5 раза больше пролина, что объясняет разницу в выплавляемости желатина.

Таким образом, особенности аминокислотного и фракционного состава белков, результаты электрофоретического исследования и атомно-силовой микроскопии свидетельствуют о наличии более низких уровней пространственной структуры рыбных коллагенов в сравнении с коллагенами наземных животных, что доказывают преимущества рыбных коллагеновых субстанций и расширяет возможности их применения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Коллагеновые белки имеют структурные особенности, определяющие их преимущества в решении прикладных задач в области биомедицинских технологий и косметологии.

Вследствие структурных различий проявляются индивидуальные химические свойства субстанций, как критерии оценки пригодности в получении косметических и медицинских материалов на их основе.

Сравнительная характеристика аминокислотного состава коллагеновых субстанций

Аминокислоты, мг/100 г	Субстанция 2%-ный раствор (спилкок КРС)	Субстанция 2%-ный раствор (шкура толстолобика)	Отклонения, %
Аспарагиновая кислота +аспарагин	0.130	0.099	-0.031
Треонин	0.106	0.078	+0.022
Серин	0.063	0.043	-0.020
Глутаминовая кислота	0.213	0.148	-0.055
Пролин	0.078	0.175	+0.095
Оксипролин	0.328	0.161	-0.157
Глицин	0.506	0.330	-0.176
Аланин	0.185	0.133	-0.052
Валин	0.047	0.320	-0.015
Метионин	0.017	0.030	+0.013
Изолейцин	0.027	0.025	+0.002
Лейцин	0.053	0.044	+0.009
Гирозин	0.004	0.012	+0.008
Фенилаланин	0.032	0.034	-0.002
Гистидин	0.013	0.009	+0.004
Лизин	0.054	0.039	+0.015
Аргинин	0.168	0.119	+0.049
Цистин	≤0.005	≤0.005	-

Значительное содержания фракций с меньшей молекулярной массой в коллагеновой субстанции рыбного происхождения, а также меньшая вязкость в сравнении с объектом из спилка крупного рогатого скота, позволяет сделать предположение о возможно более высокой степени миграции в биологические органы и ткани при аппликативном и инъекционном способе применения материалов на основе коллагенов рыб.

Исследования проведены в соответствии с НИР № 3017, выполненной в рамках базовой части государственного задания № 2014/22.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Антипова Л.В. Коллагены: источники, свойства, применение /Л.В. Антипова, С.А. Сторублевцев / Воронеж: ВГУИТ. — 2014. — 525 с.
- 2 Антипова Л.В. Шкуры рыб - как объект для получения коллагеновых субстанций / Л.В. Антипова, С.А. Сторублевцев, М.В. Бобрешова // Научни трудове Университет по хранителни технологии Пловдив. — Vol. LIX. — 2012. — С.976-978.
- 3 Антипова Л.В. Методы исследования мяса и мясопродуктов: учебное пособие / Л.В. Антипова,

Воронежский государственный университет инженерных технологий

Антипова Л. В., заслуженный деятель науки РФ, д.т.н., проф. кафедры технологии продуктов животного происхождения
Тел.: 8920-219-50-31
E-mail: meatech@yandex.ru

И. А. Глотова, И.А. Рогов. — М.: Колос, 2004. — 571 с.

4 Батечко С.А. Коллаген. Новая стратегия сохранения здоровья и продления молодости / С.А. Батечко, А.М. Ледзевиров. — Колечково, 2010. — 244с.

5 Prospects of obtaining and applying wound healing materials based on fish collagen / L.V. Antipova [et al.] // Materials of 1st International Congress Industrial-academic networks in cooperation activities for pharmaceutical, chemical and food fields. — 2014. — p. 116-120.

6 Оценка бактериостатического эффекта иммобилизованных на коллагеновом носителе антибиотиков и ионов серебра в обеспечении асептики / Л.В. Антипова [и др.] // Гигиена и санитария. 2015. — 94 (9). — С. 54-56.

7 Сторублёвцев С.А. Получение и применение функционального гидролизата коллагена соединительных тканей сельскохозяйственных животных / С.А. Сторублёвцев / Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук / Воронежская государственная технологическая академия. Воронеж. — 2009. — 24 с.

Voronezh State University of Engineering Technologies

Antipova L. V., Honored Worker of Science RF, Doct.Tech.Sci., prof. of Department of Technology of products of animal origin,
Ph.:8920-219-50-31
E-mail: meatech@yandex.ru

*Сторублевцев С. А., к.т.н., доц. кафедры технологии продуктов животного происхождения
Тел.: 8908-139-36-18
E-mail: c11111983@yandex.ru*

*Storablevtsev S. A., Cand.Tech.Sci., associate prof. of Department of Technology of products of animal origin
Ph.: 8908-139-36-18
E-mail: c11111983@yandex.ru*