

PŘÍRODNÍ POLYMERY

Bílkovinná vlákna I - KOLAGEN

RNDr. Ladislav Pospíšil, CSc.

Časový plán

LEKCE	téma
1	Úvod do předmětu - Struktura a názvosloví přírodních polymerů, literatura
2	Deriváty kyselin, - přírodní pryskyřice, vysýchavé oleje, šelak
3	Vosky
4	Přírodní gummy, Polyterpeny – přírodní kaučuk, získávání, zpracování a modifikace
5	Polyfenoly – lignin, huminové kyseliny
6	Polysacharidy I – škrob
30. 11.	Polysacharidy II – celulóza (DOKONČENÍ LEKCE)
7. 12.	Kasein, syrovátka, vaječné proteiny
7. 12.	Bílkovinná vlákna I - kolagen
14. 12.	Bílkovinná vlákna II – fibroin atd.
14. 12.	Identifikace přírodních látek (POKUD TO STIHNEME)

**Bylo již probráno v
přednášce 9:
Kasein, syrovátka,
vaječné proteiny**

- 1. Chemie peptidů a proteinů
(bílkovin)**
- 2. Nadmolekulární struktura
peptidů a proteinů (bílkovin)**

- P. Mokrejš: **Aplikace přírodních polymerů – Návody k laboratorním cvičením z předmětu**, skripta UTB Zlín, 2008
- P. Mokrejš, F. Langmaier: **Aplikace přírodních polymerů**, skripta UTB Zlín, 2008
- Ing. J. Dvořáková: **PŘÍRODNÍ POLYMERY**, VŠCHT Praha, Katedra polymerů, skripta 1990
- J. Zelinger, V. Heidingsfeld, P. Kotlík, E. Šimůnková: **Chemie v práci konzervátora a restaurátora**, ACADEMIA Praha 1987,
- A. Blažej, V. Szilvová: **Prírodné a syntetické polymery**, SVŠT Bratislava, skripta 1985
- M. Mrazík: **Koželužská technologie**, SNTL Praha 1989
- J. Bajzík, P. Múčka: **Chemická technológia kože II**, ALFA Bratislava 1987



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

APLIKACE PŘÍRODNÍCH POLYMERŮ

PAVEL MOKREJŠ
FERDINAND LANGMAIER

UTB VE ZLÍNĚ



ZLÍN 2008

Návody k laboratorním cvičením z předmětu
APLIKACE PŘÍRODNÍCH POLYMERŮ

PAVEL MOKREJŠ



ZLÍN 2008

**Obsahuje
hodně metod
na bílkoviny &
aminokyseliny
a na dřevo,
málo na škrob**

- 1. Zopakování základních pojmů týkajících se BÍLKOVIN (přednáška 9)**
- 2. Vlákenné bílkoviny**
- 3. Výroba želatiny a klišu**
- 4. Koželužství**
 - 1. Kůže versus useň**
 - 2. Postup činění kůží**
- 5. Useň a konzervátor - restaurátor**

1. Zopakování základních pojmu týkajících se BÍLKOVIN (přednáška 9)

Strukturní hierarchie peptidů a proteinů (bílkovin)

- **Primární struktura** – sled aminokyselin
- **Sekundární struktura** – interakce v rámci jedné makromolekuly
- **Terciární struktura** - interakce v rámci více makromolekul, svazky řetězců nebo nesousedními segmenty polymerního řetězce
- **Kvartérní struktura** – interakce mezi svazky řetězců

Terciární a kvartérní struktury – tomu se budeme věnovat nyní u kolagenu

Dělení proteinů(bílkovin) podle výskytu dalších složek v makromolekule

- **JEDNODUCHÉ (PROTEINY)** – hydrolýzu se štěpí jen na aminokyseliny
- **SLOŽENÉ (PROTEIDY)** – hydrolýzu se štěpí na aminokyseliny, cukry, tuky, ...
 - LIPOPROTEINY (tuky)
 - GLYKOPROTEINY (cukry)
 - FOSFOPROTEINY (fostátové skupiny > **KASEIN**)
 - CHROMOPROTEINY (barviva, např. hemoglobin, melamin)

Dělení proteinů(bílkovin) podle rozpustnosti ve vodě

- **ROZPUSTNÉ (SFÉROPROTEINY)**
 - (TEPLO > KOAGULACE)
 - Albumin > **vaječný bílek**
 - Gluteliny > **glutein z pšenice**
- **NEROZPUSTNÉ (SKLEROPROREINY)**
 - Keratiny α a β

–Kolageny

2. Vlákennité bílkoviny

**Interakce v rámci
jedné
makromolekuly**

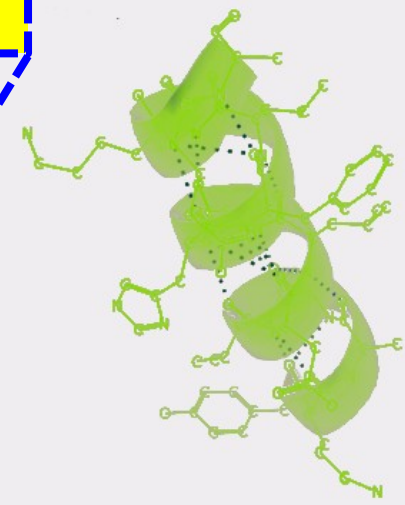
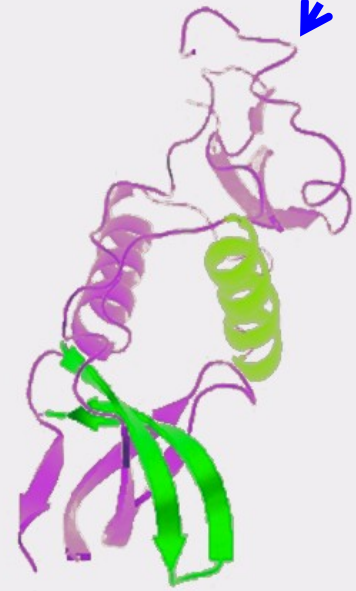
secondary structure

quarternary structure

tertiary structure



**Interakce v rámci
VÍCE
MAKROMOLEKUL**



α -helix

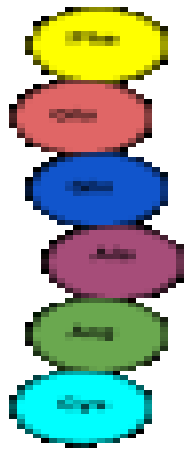
**Dvě možnosti -
struktury**

β -sheet

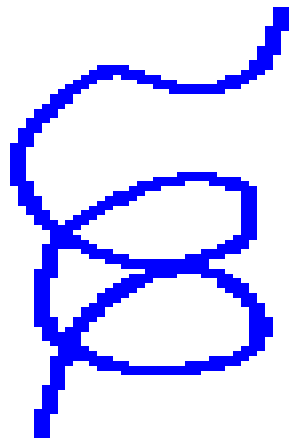
primary structure

Tyr-Lys- Ala-Ala-Val-Asp-Leu-Ser-His-Phe-Leu-Lys-Glu-Lys

Asp-Trp-Trp-Glu-Ala-Arg-Ser-Leu-Thr-Thr-Gly-Glu-Thr-Gly-Tyr-Pro-Ser



1

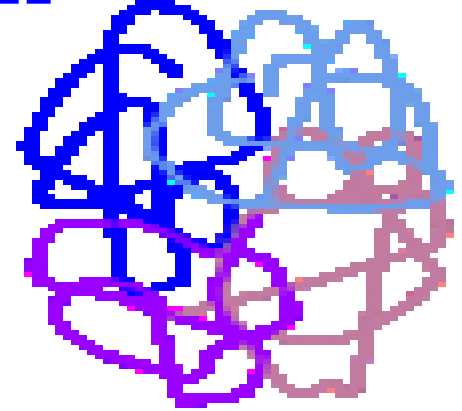


2

**Interakce v rámci
jedné makromolekuly**



3



**Interakce v rámci
VÍCE
MAKROMOLEKUL**

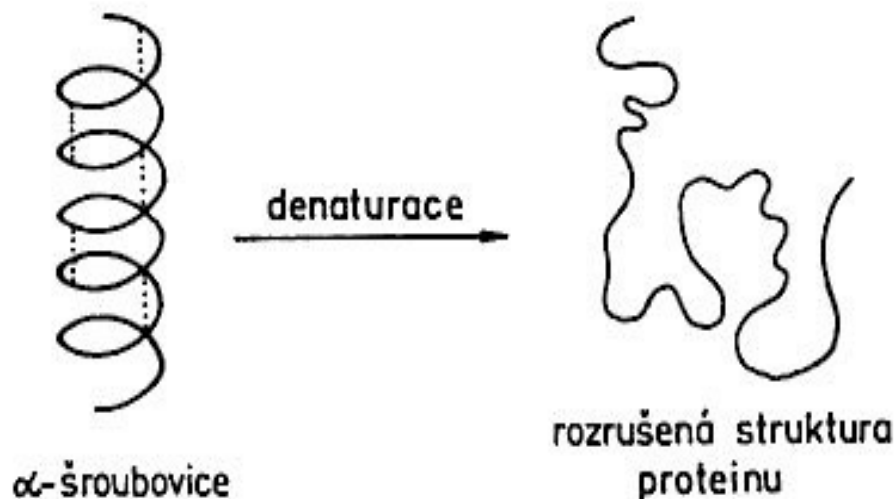
Functional proteins have four levels of structural organization:

- 1) Primary Structure : the linear structure of amino acids in the polypeptide chain
- 2) Secondary Structure : hydrogen bonds between peptide group chains in an alpha helix or beta
- 3) Tertiary Structure : three-dimensional structure of alpha helixes and beta helixes folded
- 4) Quaternary Structure : three-dimensional structure of multiple polypeptides and how they fit together

Dělení proteinů(bílkovin) podle tvaru molekul či nadmolekulárních útvarů

- **VLÁKNITÉ = FIBRILÁRNÍ >**
HEDVÁBÍ, VLASY, SVALY, VAZIVA
- **KULOVÉ = GLOBULÁRNÍ > ENZYMY,**
VAJEČNÉ A MLÉČNÉ BÍLKOVINY, INSULIN,
...

DENATURACE a KOAGULACE proteinů



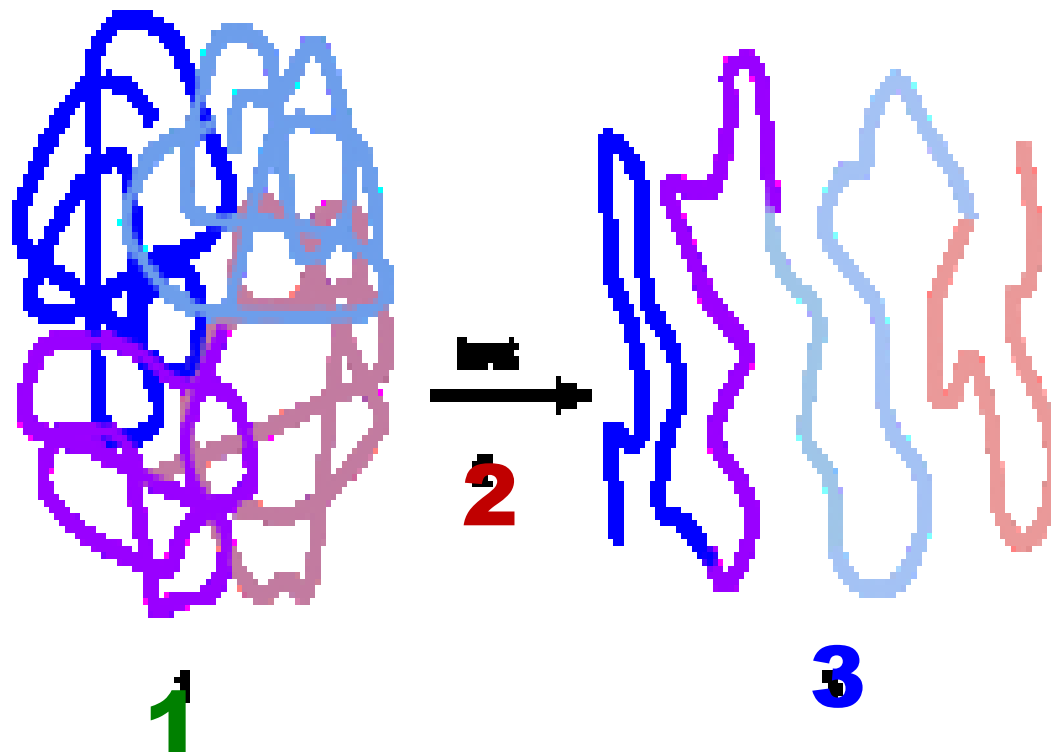
**DENATURACE
je ROZRUŠENÍ
STRUKTURY
BÍLKOVINY**

KOAGULACE je vytvoření nerozpustné formy bílkoviny z původně rozpustné formy fyzikálním působením, např. tepla (např. bílek při vaření vejce) nebo působením chemických činidel.

KOAGULACE je jednou z forem

DENATURACE

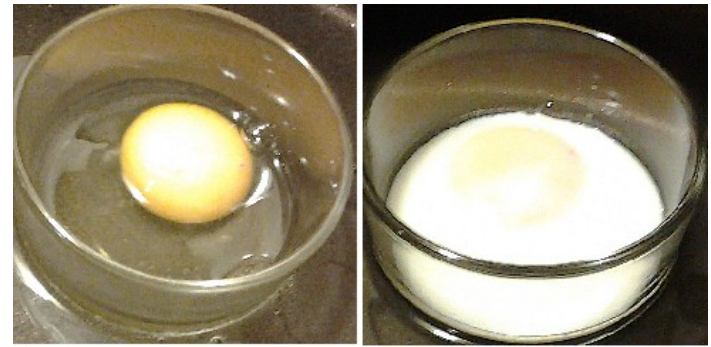
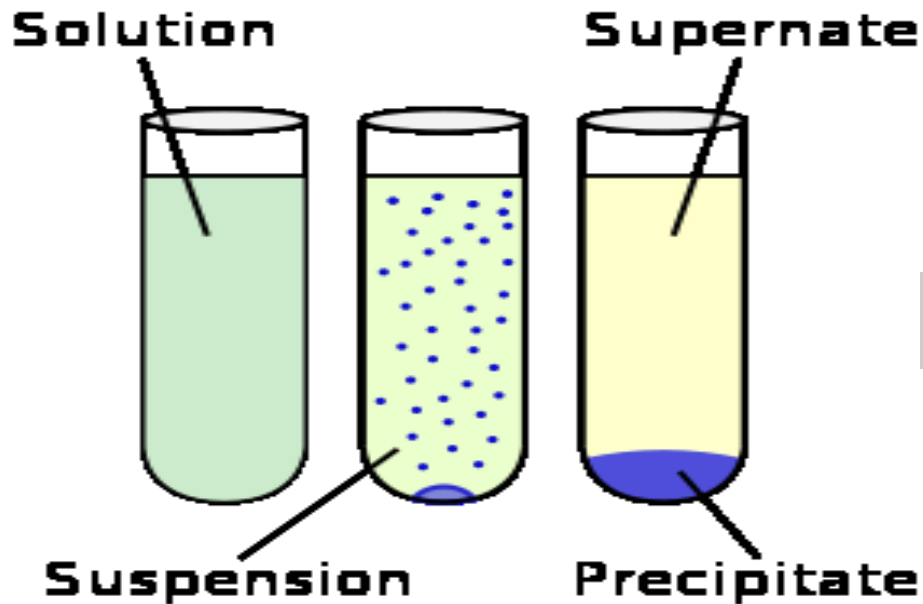
**KOAGULACE TEPLEM JE OBVYKLE
NEVRATNÁ**



Process of Denaturation:

- 1) Functional protein showing a quaternary structure
- 2) when heat is applied it alters the intramolecular bonds of the protein
- 3) unfolding of the polypeptides (amino acids)

Denaturation is a process in which proteins or nucleic acids lose the quaternary structure, tertiary structure and secondary structure which is present in their native state, by application of some external stress or compound such as a strong acid or base, a concentrated inorganic salt, an organic solvent (e.g., alcohol or chloroform), radiation or heat.^[3] If proteins in a living cell are denatured, this results in disruption of cell activity and possibly cell death. Denatured proteins can exhibit a wide range of characteristics, from loss of solubility to communal aggregation



KOAGULACE TEPEM



ANALOGIE se sponkami

IUPAC definition

Process of partial or total alteration of the native secondary, and/or tertiary, and/or quaternary structures of proteins or nucleic acids **resulting in a loss of bioactivity.**

Note 1:

Denaturation can occur when proteins and nucleic acids are subjected to **elevated temperature or to extremes of pH, or to nonphysiological concentrations of salt, organic solvents, urea, or other chemical agents.**

Note 2:

An enzyme loses its catalytic activity when it is denaturalized.^[2]

Reversibility and irreversibility

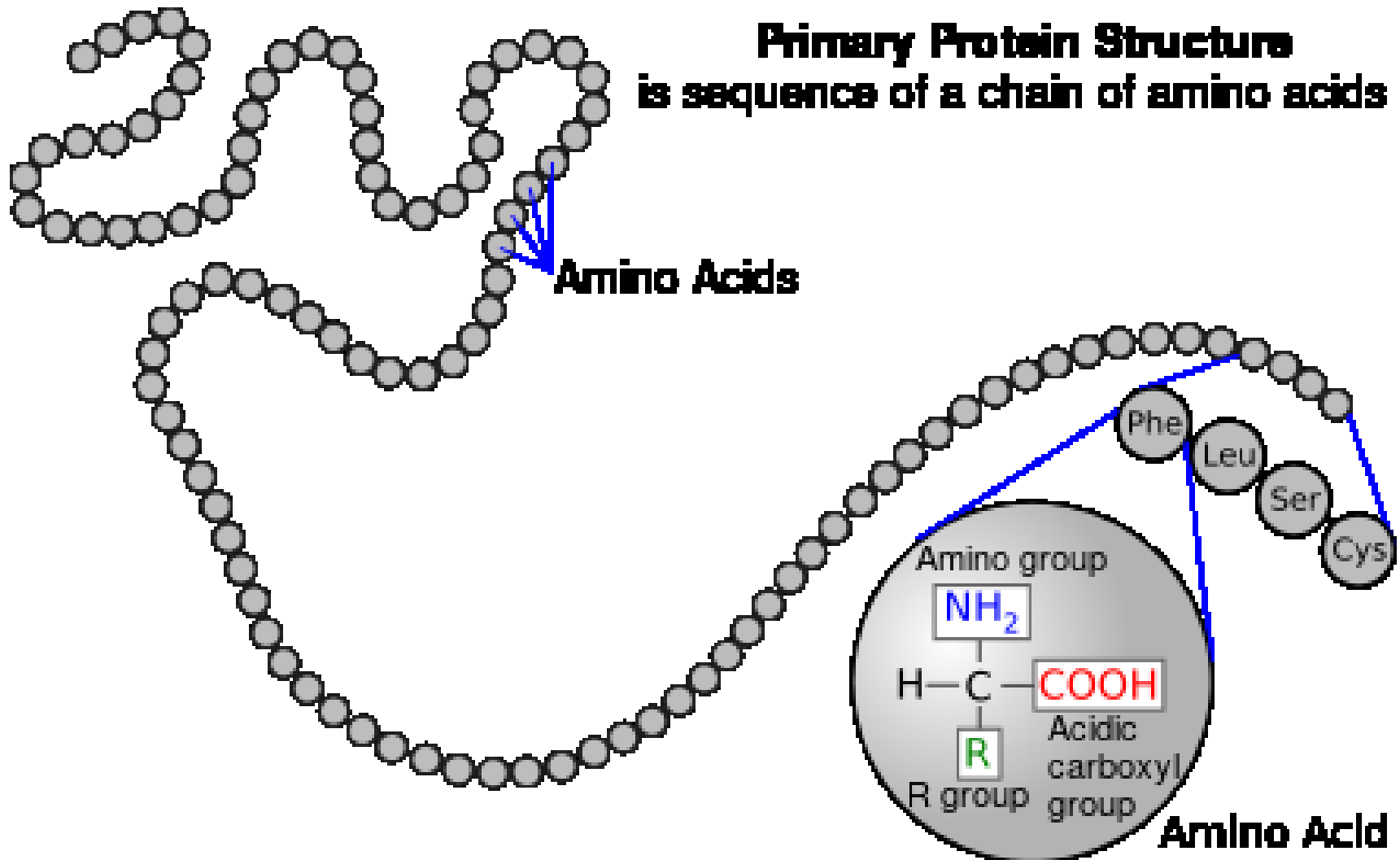
In very few cases, denaturation is reversible (the proteins can regain their native state when the denaturing influence is removed). This process can be called renaturation.^[6]

This understanding has led to the notion that all the information needed for proteins to assume their native state was encoded in the primary structure of the protein, and hence in the DNA that codes for the protein, the so-called "Anfinsen's thermodynamic hypothesis".^[7]

One example of renaturation is that an egg white can be uncooked using vitamin C or sodium borohydride.^[8]

PRIMÁRNÍ STRUKTURA proteinů I

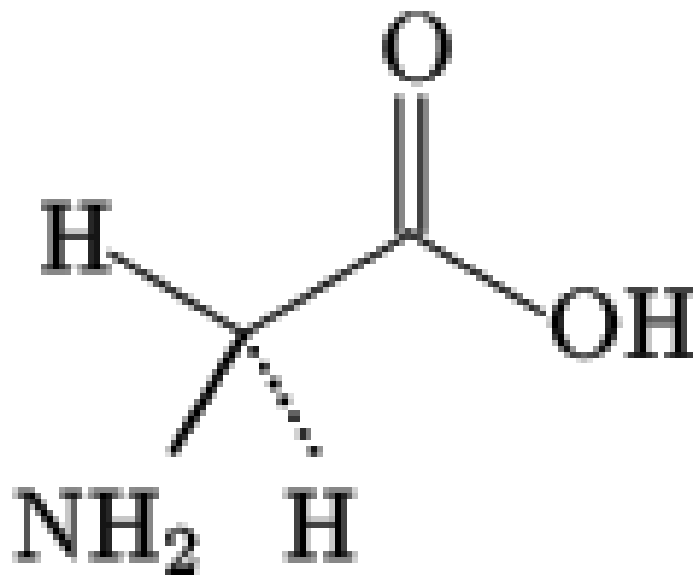
Primary Protein Structure is sequence of a chain of amino acids



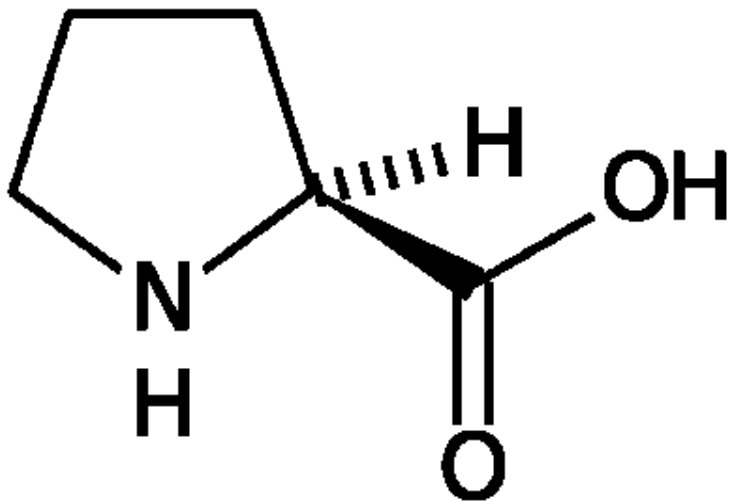
KOLAGEN jako příklad FIBRILÁRNÍCH PROTEINŮ

- KŮŽE, KOSTI, CHRUPAVKY, ŠLACHY, CÉVNÍ STĚNY, ROHOVKY, ...
- Glycin 27 %, prolin 15 %, sekvence (GLY-X-Y)_n
- Popsáno do nynějška 15 typů kolagenů, lišících se výskytem a zastoupením aminokyselin
- **TROPOKOLAGEN** – tři vzájemně ovinuté řetězce
- **TROPOKOLAGEN** > samoseskupení v **KOLAGENOVÉ FIBRILY** > sesíťování přes H můstky > **KOLAGENOVÁ VLÁKNA** > **SVAZKY VLÁKEN**
- **ODBOURÁNÍ KOLAGENU ENZYMEM KOLAGENÓZOU** > stárnutí pokožky

Glycin (Gly, G)



Prolin (Pro, P)



PRIMÁRNÍ STRUKTURA proteinů II - KOLAGEN jako příklad (uvedeny počty jednotlivých aminokyselin v makromolekule)

AMK	Typ I		Typ II	Typ III	Typ IV	Typ V	
	alfa1	alfa2				A	B
3-Hyp	1,0	0,0	2,0	—	11	2,5	2,9
4-Hyp	96	86	99	125	130	109	109
Asp	46	44	42	42	51	51	50
Thr	20	20	20	13	23	26	19
Ser	42	43	27	39	37	31	26
Glu	74	66	89	71	84	84	91
Pro	129	113	121	107	61	97	118
Gly	330	336	333	350	310	319	322
Ala	112	102	100	96	33	52	46
Val	20	32	18	14	29	27	18
Gys 1	-	-	-	2	8	-	-
Met	8	6	9	8	10	11	8
Ile	6	16	9	13	30	16	19
Leu	18	32	26	22	54	35	39
Tyr	2	2	1	3	6	18	2,1
Xhe	12	10	13	8	27	14	12
Hyl	4,3	8	20	30	10	18	20
Lys	30	22	2	6	10	11	7,3
Arg	49	51	51	46	33	68	50

12. 2016

PRIMÁRNÍ STRUKTURA proteinů III

KOLAGEN jako příklad

Typ	Molekulární složení	Výskyt
I	[alfa1(I)]2alfa2	V kůži, šlachách, kostech, aortě, plicích atd.
II	[alfa1(II)]3	Hyalinová chrupavka
III	[alfa1(III)]3	Stejně jako typ I, dříve se nazýval retikulín
IV	[alfa1(IV)]3	V bazálních membránách
V		V novotvarech apod.
VI		V intersticiální tkáni
VII		V tkáních epitelu
VIII		V některých buňkách endotelu
IX		V chrupavkách spolu s typem II
X		Je součástí hypertrofických a mineralizujících chrupavek
XI		V chrupavce
XII		Vyskytuje se společně s typy I a III

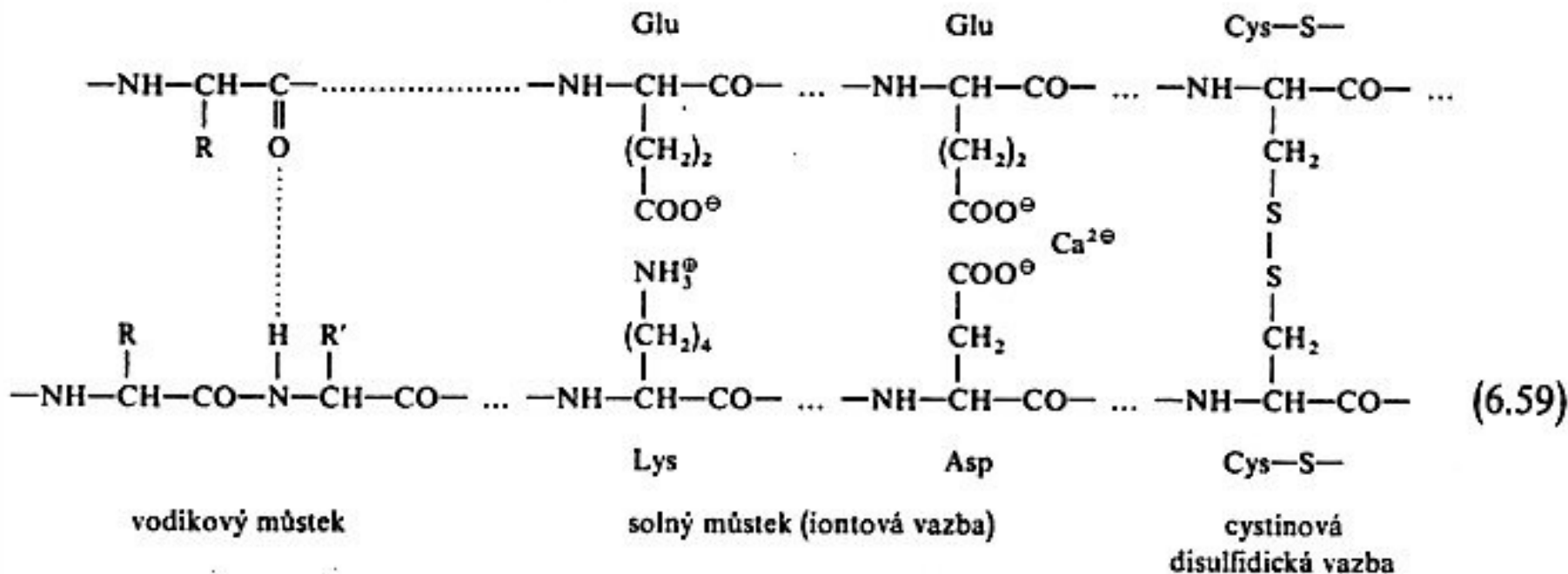
Aminokyselinová sekvence alfa1 řetězce kolagenu kůže (N-terminální a C-terminální oblasti jsou odděleny a nejsou očíslovány)

Glu-Met-Ser-Tyr-Gly-Tyr-Asp-Glu-Lys-Ser-Ala-Gly-Val-Ser-Val-Pro-

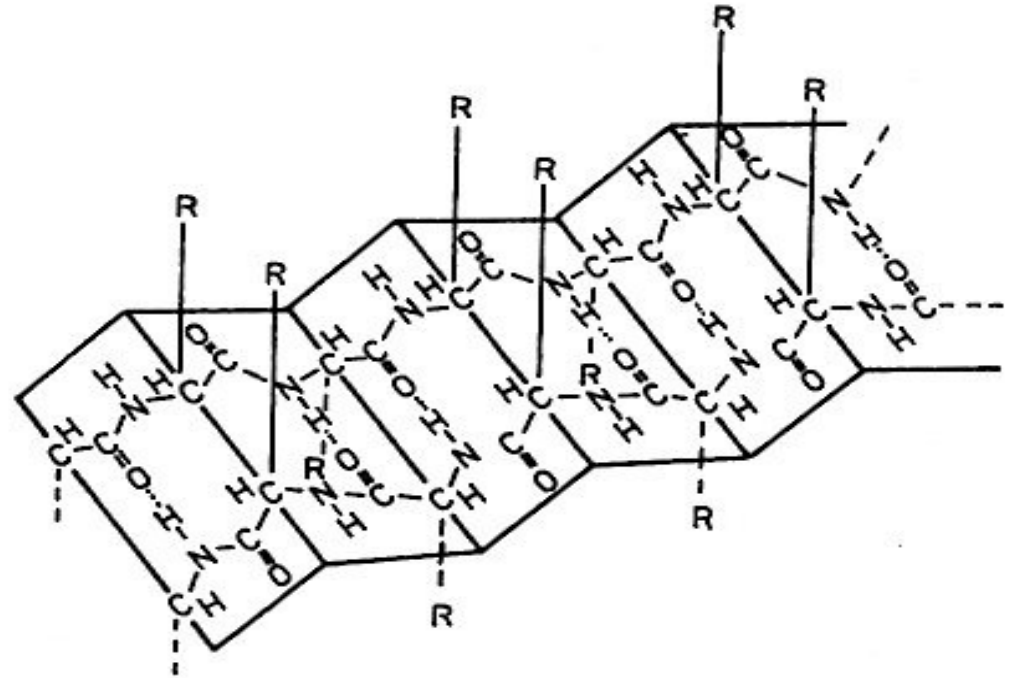
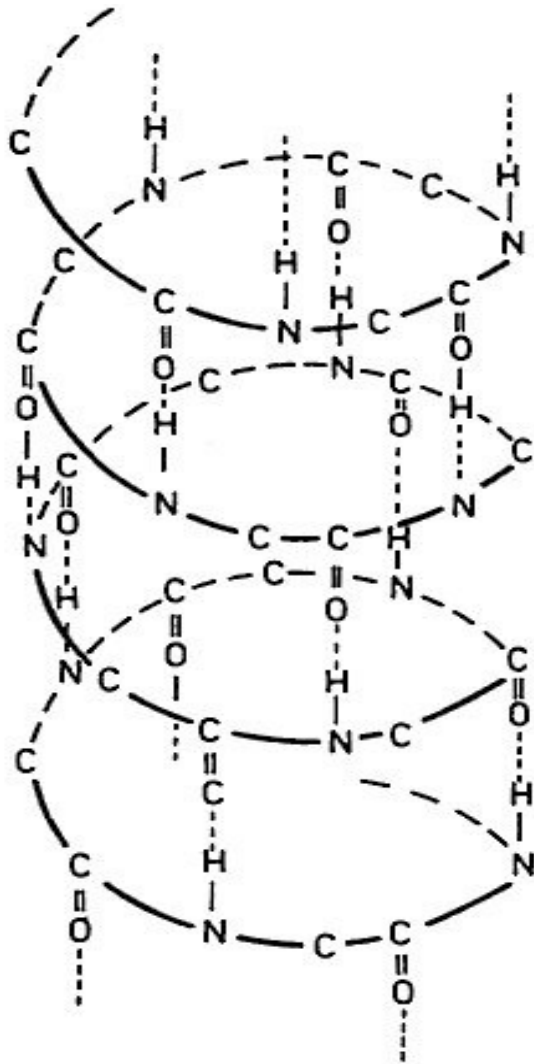
Gly-Pro-Met-Gly-Pro-Ser-Gly-Pro-Arg-Gly-Leu-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Ala-Hyp-Gly-Pro-Gln-Gly-Phe-Gln-Gly-Pro-Hyp-Gly-Glu-Hyp-Gly-Glu-Hyp-Gly-Ala-Ser-Gly-Pro-Met-Gly-Pro-Arg-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Lys-Asn-Gly-Asp-Asp-Gly-Glu-Ala-Gly-Lys-Pro-Gly-Arg-Hyp-Gly-Gln-Arg-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Gln-Gly-Ala-Arg-Gly-Leu-Hyp-Gly-Thr-AJa-Gly-Leu-Hyp-Gly-Met-Hyl-Gly-His-Arg-Gly-Phe-Ser-Gly-Leu-Asp-Gly-Ala-Lys-Gly-Asn-Thr-Gly-Pro-AIa-Gly-Pro-Lys-Gly-Glu-Hyp-Gly-Ser-Hyp-Gly-Glx-Asx-Gly-Ala-Hyp-Gly-Gln-Met-Gly-Pro-Arg-Gly-Leu-Hyp-Gly-Glu-Arg-Gly-Arg-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Ser-Ala-Gly-Ala-Arg-Gly-Asp-Asp-Gly-Ala-Val-Gly-Ala-Ala-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Thr-Gly-Pro-Thr-Gly-Pro-Hyp-Gly-Phe-Hyp-Gly-Ala-Ala-Gly-Ala-Lys-Gly-Glu-Ala-Gly-Pro-Gln-Gly-Ala-Arg-Gly-Ser-Glu-Gly-Pro-Gln-Gly-Val-Arg-Gly-Glu-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Ala-Gly-Ala-Ala-Gly-Pro-Ala-Gly-Asn-Hyp-Gly-Ala-Asp-Gly-Gln-Hyp-Gly-Ala-Lys-Gly-Ala-Asn-Gly-Ala-Hyp-Gly-Ile-Ala-Gly-Ala-Hyp-Gly-Phe-Hyp-Gly-Ala-Arg-Gly-Pro-Scr-Gly-Pro-Gln-Gly-Pro-Ser-Gly-Ala-Hyp-Gly-Pro-Lys-Gly-Asn-Ser-Gly-Glu-Hyp-Gly-Ala-Hyp-Gly-Asn-Lys-Gly-Asp-Thr-Gly-Ala-Lys-Gly-Glu-Hyp-Gly-Pro-Ala-Gly-Val-Gln-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Ala-Gly-Glu-Glu-Gly-Lys-Arg-Gly-Ala-Arg-Gly-Glu-Hyp-Gly-Pro-Ser-Gly-Leu-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Glu-Arg-Gly-Gly-Hyp-Gly-Ser-Arg-Gly-Phe-Hyp-Gly-Ala-Asp-Gly-Val-Ala-Gly-Pro-Lys-Gly-Pro-Ala-Gly-Glu-Arg-Gly-Ser-Hyp-Gly-Pro-Ala-Gly-Pro-Lys-Gly-Ser-Hyp-Gly-Glu-Ala-Gly-Arg-Hyp-Gly-Glu-Ala-Gly-Leu-Hyp-Gly-Ala-Lys-Gly-Leu-Thr-Gly-Ser-Hyp-Gly-Ser-Hyp-Gly-Pro-Asp-Gly-Lys-Thr-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Ala-Gly-Gln-Asp-Gly-Arg-Hyp-Gly-Pro-Ala-Gly-Pro-Hyp-Gly-Ala-Arg-Gly-Gln-Ala-Gly-Val-Met-Gly-Phe-Hyp-Gly-Pro-Lys-Gly-Ala-Ala-Gly-Glu-Hyp-Gly-Lys-AIa-Gly-Glu-Arg-Gly-Val-Myp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Ala-Val-Gly-Pro-Ala-Gly-Lys-Asp-Gly-Glu-AJa-Gly-Ala-Gln-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Ala-Gly-Pro-A,-Gly-Glu-Arg-Gly-Glu-Gln-Gly-Pro-Ala-Gly-Ser-Hyp-Gly-Phe-Gln-Gly-Leu-Hyp-GIy-Pro-Ala-Gly-Pro-Hyp-Gly-Glu-Ala-Gly-Lys-Hyp-Gly-Glu-Gln-Gly-Val-Hyp-Gly-Asp-Leu-Gly-Ala-Hyp-Gly-Pro-Ser-Gly-Ala-Arg-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Hyp-Gly-Glu-Arg-Gly-Val-Glu-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Ala-GJy-Pro-Arg-Gly-Ala-Asn-Gly-Ala-Hyp-Gly-Asn-Asp-Gly-Ala-Lys-Gly-Asp-Ala-Gly-Ala-Hyp-Gly-Ala-Hyp-Gly-Ser-Gln-Gly-Als-Hyp-Gly-Leu-Gln-Gly-Met-Hyp-Gly-Glu-Arg-Gly-Ala-Ala-Gly-Leu-Hyp-Gly-Pro-Lys-Gly-Asp-Arg-Gly-Asp-Ala-Gly-Pro-Lys-Gly-Aln-Asp-Gly-Ala-Pro-Gly-Lys-Asp-Gly-Val-Arg-Gly-Leu-Thr-Gly-Pro-Ile-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Ala-Gly-Ala-Hyp-Gly-Asp-Lys-Gly-Glu-Ala-Gly-Pro-Ser-Gly-Pro-Ala-Gly-Thr-Arg-Gly-Ala-Hyp-Gly-Asp-Arg-Gly-Glu-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Ala-Gly-Phe-Ala-Gly-Pro-Hyp-Gly-Ala-Asp-Gly-Gln-Hyp-Gly-Ala-Lys-Gly-Glu-Hyp-Gly-Asp-Ala-Gly-Ala-Lys-Gly-Asp-Ala-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Ala-Gly-Pro-Ala-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Ile-Gly-Asn-Val-Gly-Ala-Hyp-Gly-Pro-Hyl-Gly-Ala-Arg-Gly-Ser-Ala-Gly-Pro-Hyp-Gly-Ala-Thr-Gly-Phe-Hyp-Gly-Ala-Ala-Gly-Arg-Val-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Ser-Gly-Asn-Ala-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Ala-Gly-Lys-Glu-Gly-Ser-Lys-Gly-Pro-Arg-Gly-Glu-Thr-Gly-Pro-Ala-Gly-Arg-Hyp-Gly-Glu-Val-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Ala-Gly-Glu-Lys-Gly-Ala-Hyp-Gly-Als-Asp-Gly-Pro-Ala-Gly-Ala-Hyp-Gly-Thr-Pro-Gly-Pro-Gln-Gly-Ile-Ala-Gly-Gln-Arg-Gly-Val-Val-Gly-Leu-Hyp-Gly-Gln-Arg-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Hyp-Gly-Leu-Hyp-Gly-Pro-Ser-Gly-Glu-Hyp-Gly-Lys-Gln-Gly-Pro-Ser-Gly-Ala-Ser-Gly-Glu-Arg-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Met-Gly-Pro-Hyp-Gly-Leu-AlarGly-Pro-Hyp-Gly-Glu-Ser-Gly-Arg-Glu-Gly-Ala-Hyp-Gly-Ala-Glu-Gly-Ser-Hyp-Gly-Arg-Asp-Gly-Ser-Hyp-Gly-Ala-Lys-Gly-Asp-Arg-Gly-Glu-Thr-Gly-Pro-Ala-Giy-Ala-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Ala-Hyp-Gly-Ala-Hyp-Gly-Pro-Val-Gly-Pro-Ala-Gly-Lys-Ser-Gly-Asp-Arg-Gly-Glu-Thr-Gly-Pro-Ala-Gly-Pro-Ile-Gly-Pro-Val-Gly-Pro-Ala-Gly-AIa-Arg-Gly-Pro-Ala-Gly-Pro-Gln-Gly-Pro-Arg-Gly-Asx-Hyl-Gly-Glx-Thr-Gly-Glx-Glx-Gly-Asx-Arg-Gly-Ile-Hyl-Gly-His-Arg-Gly-Phe-Ser-Gly-Leu-Gln-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Ser-Hyp-Gly-Glu-Gln-Gly-Pro-Ser-Gly-Ala-Ser-Gly-Pro-Ala-GIy-Pro-Arg-Gly-Pro-Hyp-Gly-Ser-Ala-Gly-Ser-Hyp-Gly-Lys-Asp-Gly-Leu-Asn-Gly-Leu-Hyp-Gly-Pro-Ile-Gly-Hyp-Hyp-Gly-Pro-Arg-Gly-Arg-Thr-Gly-Asp-Ala-Gly-Pro-Ala-Giy-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Pro-

SEKUNDÁRNÍ STRUKTURA proteinů I

Charakteristické vazby určující konformaci proteinů jsou uvedeny ve vzorci



SEKUNDÁRNÍ STRUKTURA proteinů II



Obr. 6.4 Struktura složených listů bílkovin

Kolageny

◀ Obr. 6.3 α -Šroubovice (α -helix) bílkovin

SEKUNDÁRNÍ STRUKTURA proteinů II

KOLAGEN jako příklad

Uspořádání SEKUNDÁRNÍ STRUKTURY (α -helix, β - plošné uspořádání, statistické klubko) má vliv i na polohu pásů v IFČ.

Tabulka 6.9

IČ spektra amidové vazby (10^2 m^{-1})

struktura	amid I	amid II
α -helix	1650	1516
	1652	1546
β -struktura	1630	1530
	1645	1550
statistické klubko	1656	1535

Poněkud neobvyklá, leč správná, jednotka vlnočtu 10^2 m^{-1} .

Numericky je to ale stejné, jako OBVYKLÁ JEDNOTKA cm^{-1} . KOLAGEN je α -helix

TERCIÁRNÍ STRUKTURA proteinů I

KOLAGEN jako příklad

Interakce mezi jednotlivými vláknitými strukturami svinutými do spirály v rámci již vytvořené **SEKUNDÁRNÍ STRUKTURY**.

Například u **KOLAGENU** se jedná o tři do další spirály stočené řetězce **SEKUNDÁRNÍ STRUKTURY**.

Uspořádání **SEKUNDÁRNÍ STRUKTURY** (α -helix, β -plošné uspořádání, statistické klubko) má vliv i na polohu pásů v IČ.

Tabulka 6.9

IČ spektra amidové vazby (10^2 m^{-1})

struktura	amid I	amid II
α -helix	1650	1516
	1652	1546
β -struktura	1630	1530
	1645	1550
statistické klubko	1656	1535

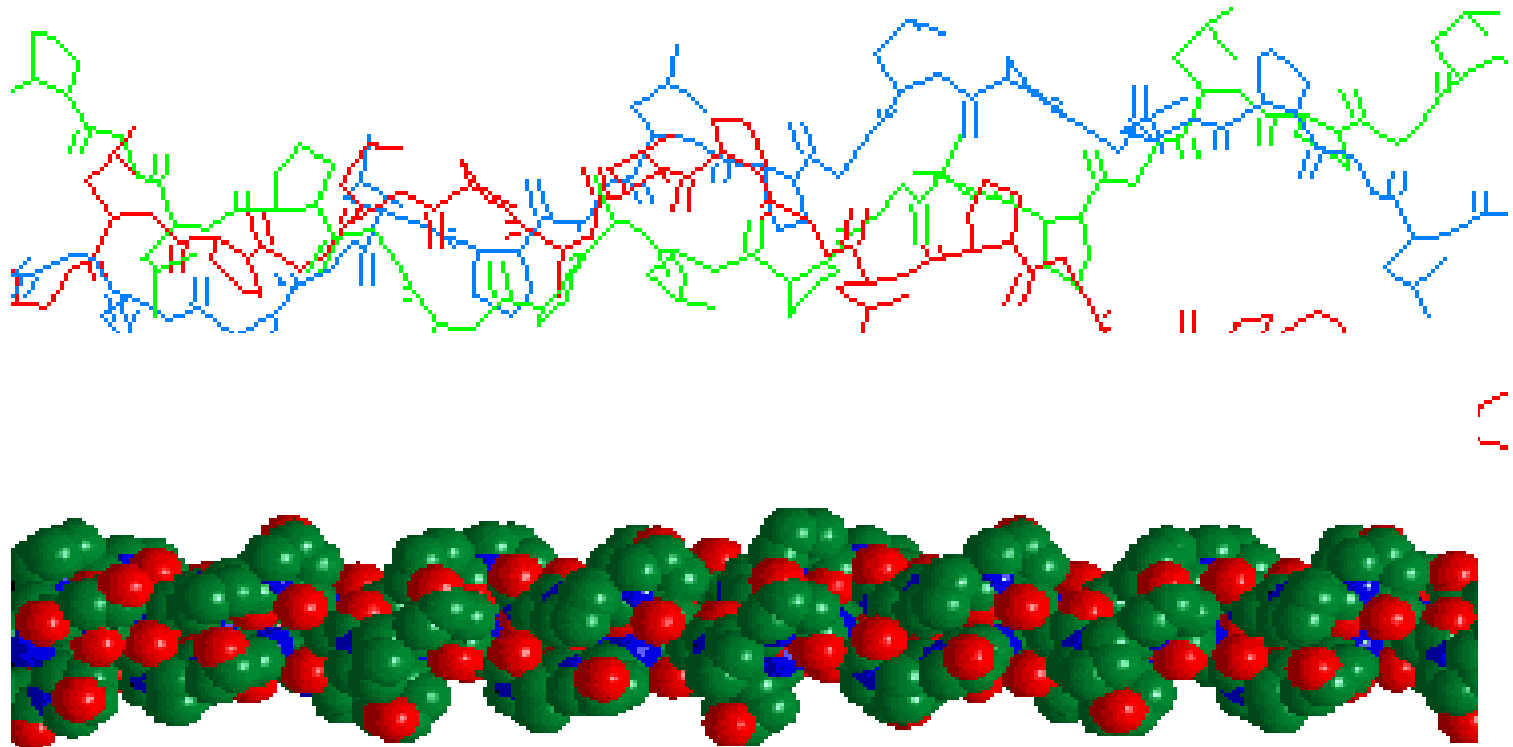
Poněkud neobvyklá, leč správná, jednotka vlnočtu 10^2 m^{-1} .

Numericky je to ale stejné, jako OBVYKLÁ JEDNOTKA cm^{-1} . KOLAGEN je α -helix

TERCIÁRNÍ STRUKTURA proteinů II

KOLAGEN jako příklad

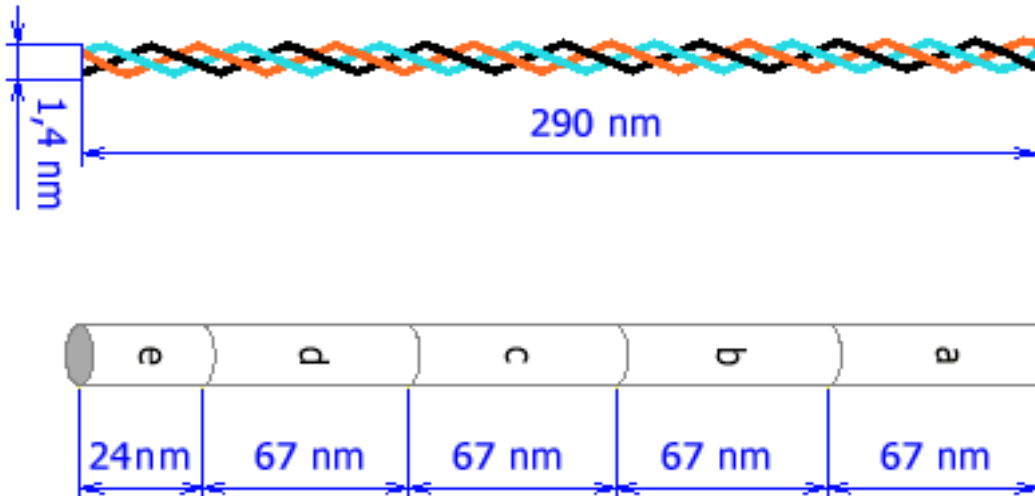
tři do další spirály stočené řetězce



TERCIÁRNÍ STRUKTURA proteinů III

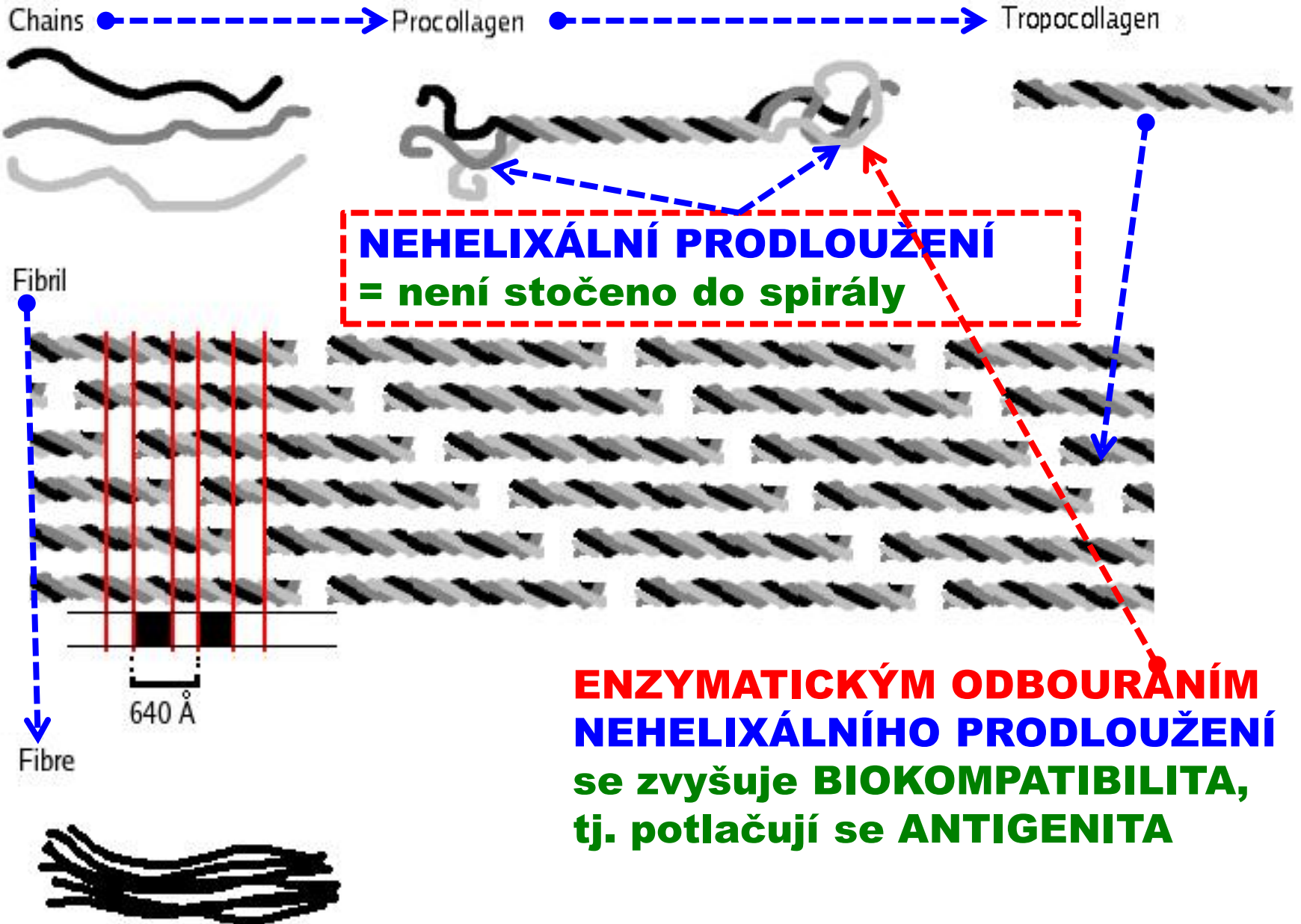
KOLAGEN jako příklad

tři do další spirály stočené řetězce



Schematické znázornění trojitě tropokolagenové molekuly. Vpravo jsou naznačeny intervaly D (67 nm), o něž jsou jednotlivé molekuly vzájemně posunuty a necelistvý interval $0,35 D$, který je v koncové oblasti a umožňuje vznik osových mezery

Synthesis of collagen



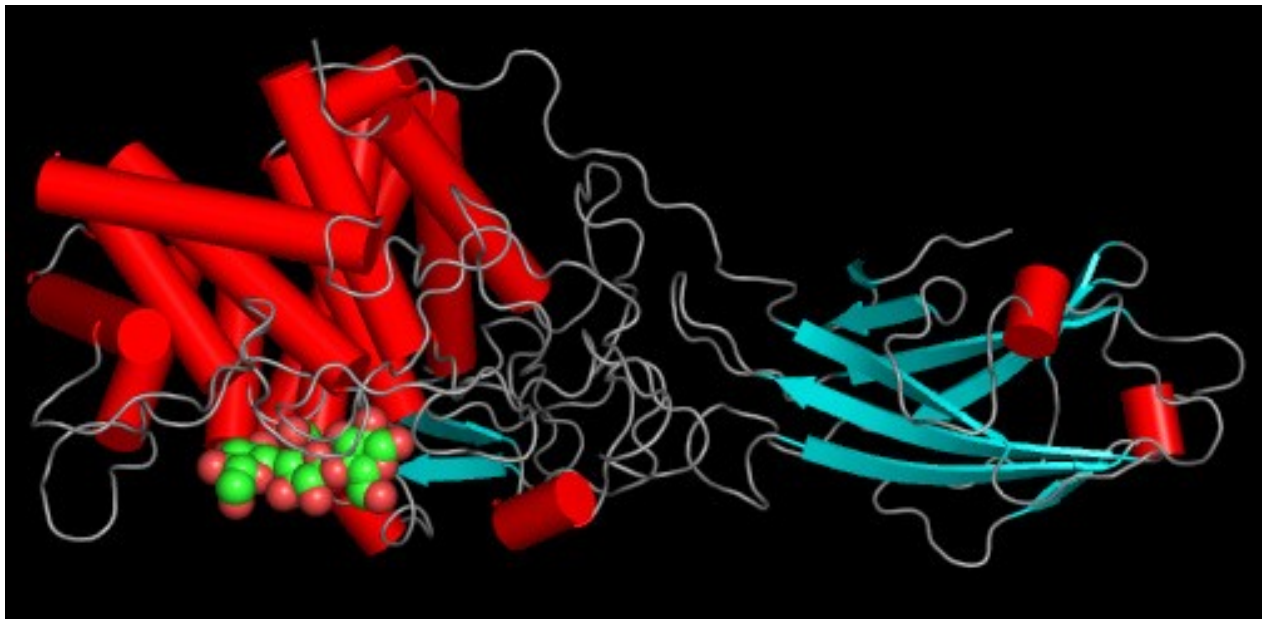
KVARTÉRNÍ STRUKTURA proteinů I

KOLAGEN jako příklad

Interakce mezi SLOŽENÝMI vláknitými strukturami svinutými do spirály v rámci již vytvořené **TERCIÁRNÍ STRUKTURY**.

Například u **KOLAGENU** se jedná o **PARALELNÍ SVAZKY TERCIÁRNÍ STRUKTURY**. Někdy se toto nazývá **VZNIK ASOCIÁTŮ**.

Toto je typické pro **ENZYMY**, kde se ale nejedná o **PARALELNÍ SVAZKY**, ale o **GLOBULÁRNÍ ÚTVARY**.



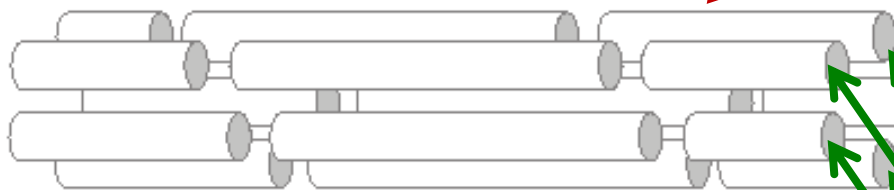
Jeden z
enzymů ze
skupiny
„CELULÁZY“

KVARTÉRNÍ STRUKTURA proteinů II

KOLAGEN jako příklad

Interakce mezi SLOŽENÝMI vláknitými strukturami svinutými do spirály v rámci již vytvořené **TERCIÁRNÍ STRUKTURY**.

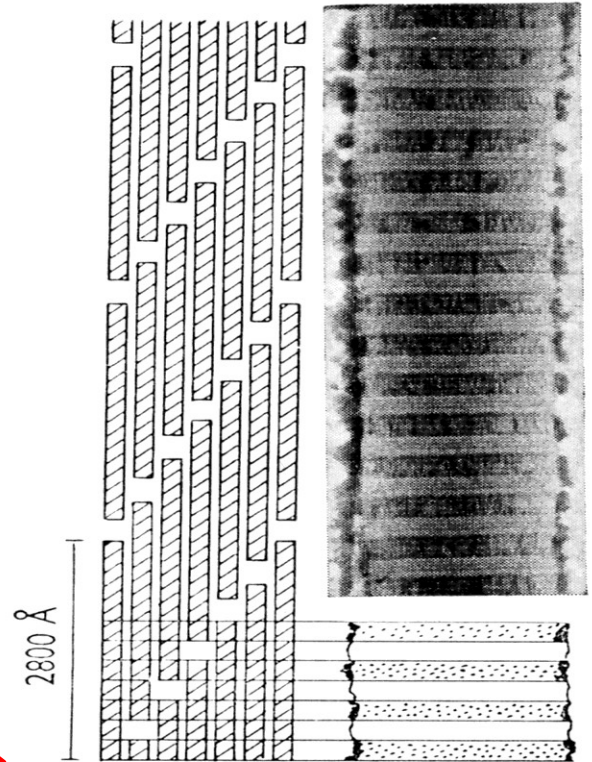
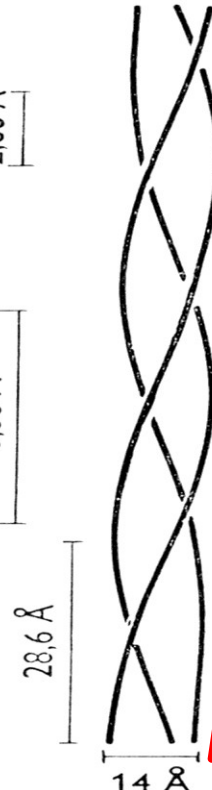
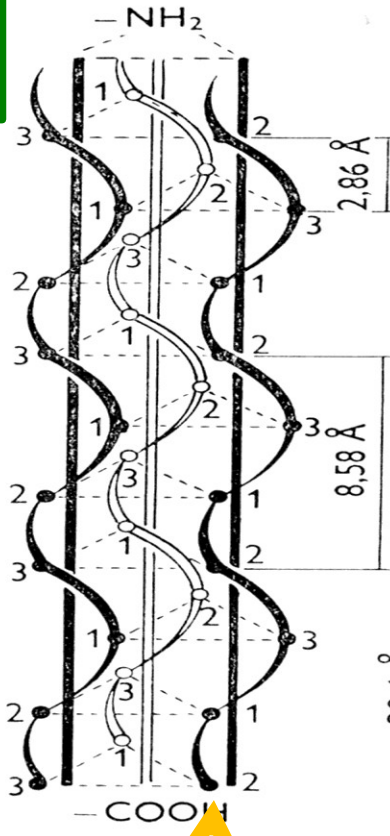
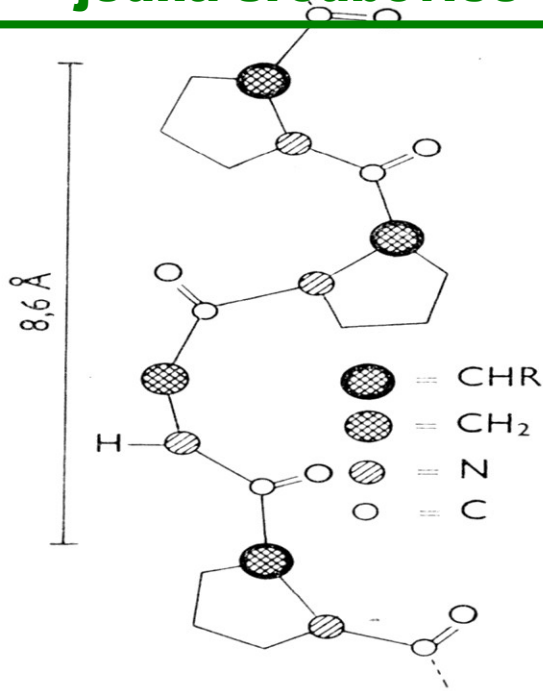
Například u **KOLAGENU** se jedná o **PARALELNÍ SVAZKY TERCIÁRNÍ STRUKTURY**.



*Model mikrofibrily vytvořené důsledkem interakce polárních a hydrofobních vedlejších řetězců. **Pět tropokolagenových molekul** je zde vzájemně posunuto o interval D a vytváří válcovitý útvar o průměru 4 nm*

KOLAGEN - hierarchie struktur

SEKUNDÁRNÍ
= jedna šroubovice



TERCIÁRNÍ - dvě různá znázornění

TŘI ŠROUBOVICE

Obrázek vlevo - ZJEDNODUŠENÍ

Obrázek vpravo - SKUTEČNOST

KVARTÉRNÍ

Primární struktury různých typů KOLAGENŮ byly už ukázány na předchozích snímcích

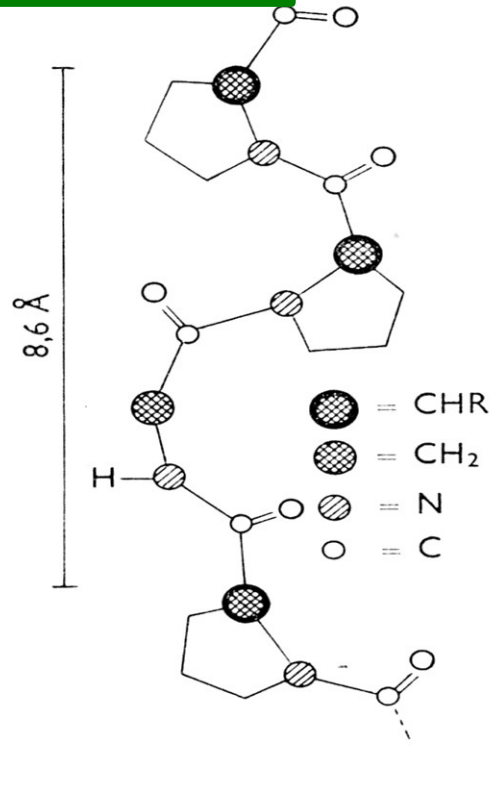
KVARTÉRNÍ

SEKUNDÁRNÍ
= jedna šroubovice

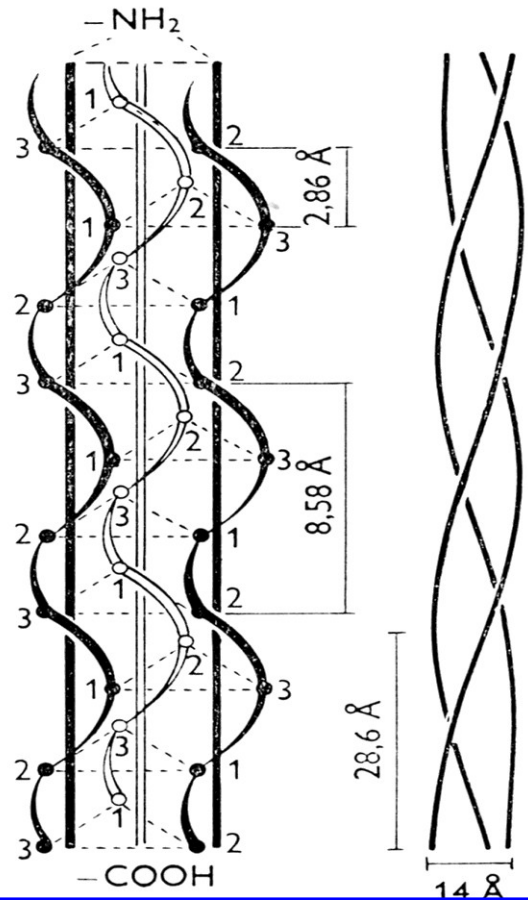
TERCIÁRNÍ –
tři šroubovice

Struktura kolagenu. Část (a) znázorňuje peptidový řetězec se dvěma prolinovými nebo hydroxyprolinovými a jedním glycinovým zbytkem v pravidelném pořadí. Tento peptidový řetězec tvoří příkrou šroubovici se stoupáním $2,8 \text{ \AA}$ na jednu jednotku aminokyseliny (b); tři tyto šroubovice jsou spojeny do svazku a vazány vzájemně vodíkovými můstky. Osy příkrých šroubovic, které jsou u (b) znázorněny jako svislice, jsou ve skutečnosti vzájemně zkrouceny, jako v laně (c). Jednotlivá lana tropokolagenových molekul o délce 2800 \AA jsou položeny vedle sebe, posunuty vždy o $1/4$ délky a ponechávají v podélném směru vždy malou mezeru; tak vzniká struktura (d), která v důsledku těchto mezer se jeví jako světlejší a tmavší pruhy (e). Totéž pruhování můžeme vidět též elektronovým mikroskopem. Negativním barvením, kterého se zde používá, jeví se světlé pruhy jako tmavé, tmavší, vyplněné hmotou, jako světlé.

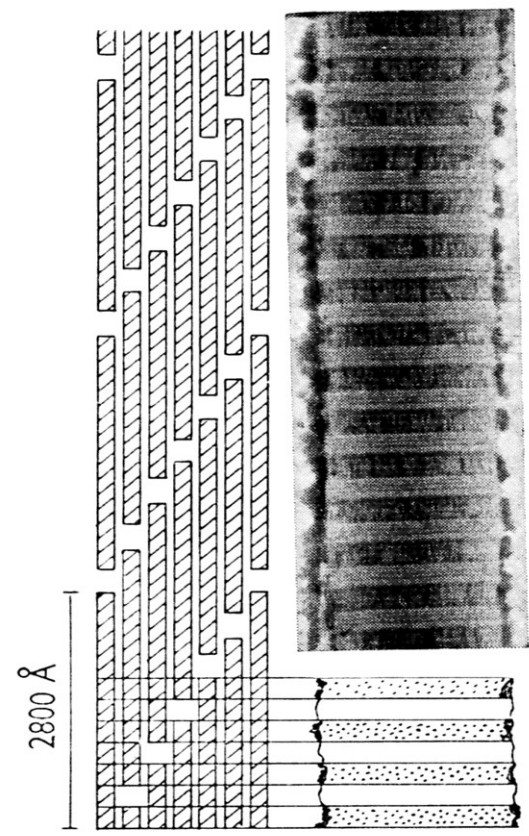
**SEKUNDÁRNÍ
jedna šroubovice**



a



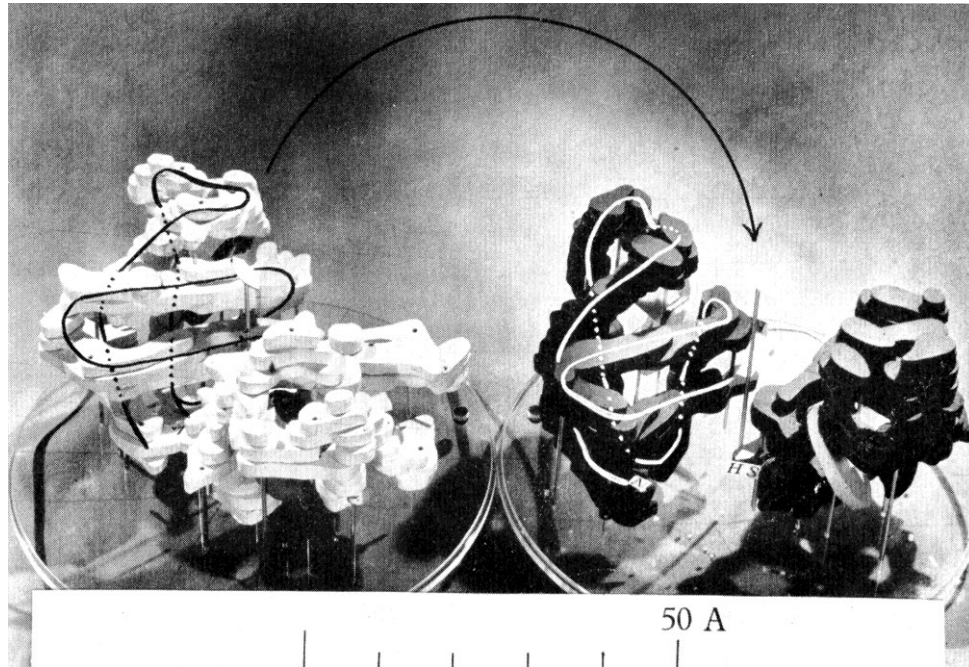
TERCIÁRNÍ tři šroubovice



KVARTÉRNÍ struktura

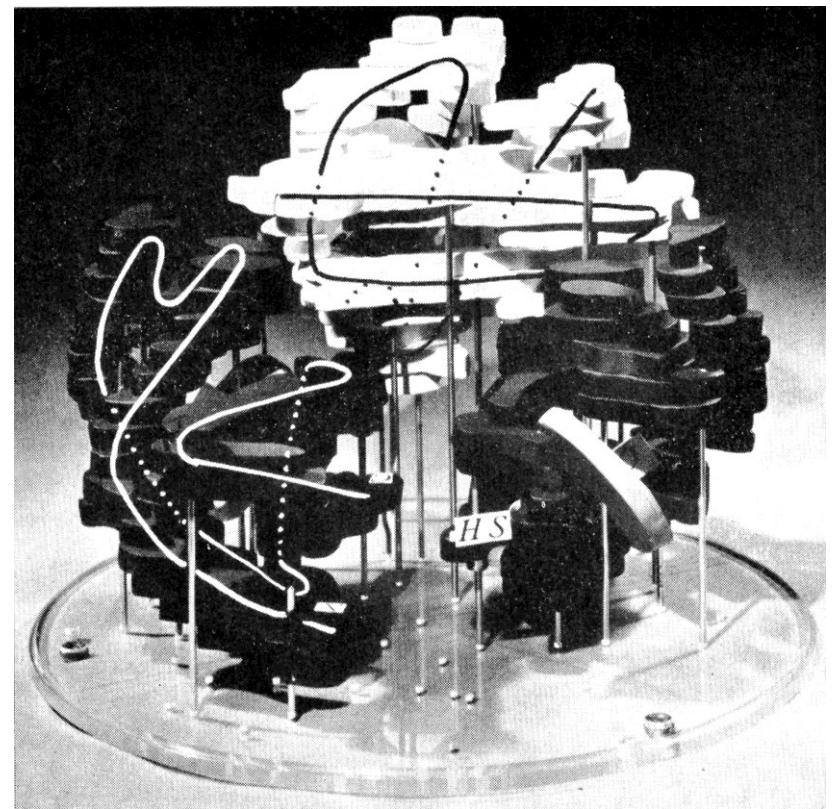
Obr. 10. Struktura kolagenu. Část (a) znázorňuje peptidový řetězec se dvěma prolinovými nebo hydroxyprolinovými a jedním glycinovým zbytkem v pravidelném pořadí. Tento peptidový řetězec tvoří příkrou šroubovici se stoupáním 2,8 Å na jednu jednotku aminokyseliny (b); tři tyto šroubovice jsou spojeny do svazku a vázány vzájemně vodíkovými můstky. Osy příkrých šroubovic, které jsou u (b) znázorněny jako svislice, jsou ve skutečnosti vzájemně zkrouceny, jako v laně (c). Jednotlivá lana tropokolagenových molekul o délce 2800 Å jsou položeny vedle sebe, posunuty vždy o 1/4 délky a ponechávají v podélném směru vždy malou mezeru; tak vzniká struktura (d), která v důsledku těchto mezer se jeví jako světlejší a tmavší pruhy (e). Totéž pruhování můžeme vidět též elektronovým mikroskopem. Negativním barvením, kterého se zde používá, jeví se světlé pruhy jako tmavé, tmavší, vyplněné hmotou, jako světlé.

PŘÍKLAD VYTVOŘENÍ KVARTÉRNÍ STRUKTURY - HEMOGLOBIN



**SLOŽKY - terciární
struktury**

**KVARTÉRNÍ
STRUKTURA**



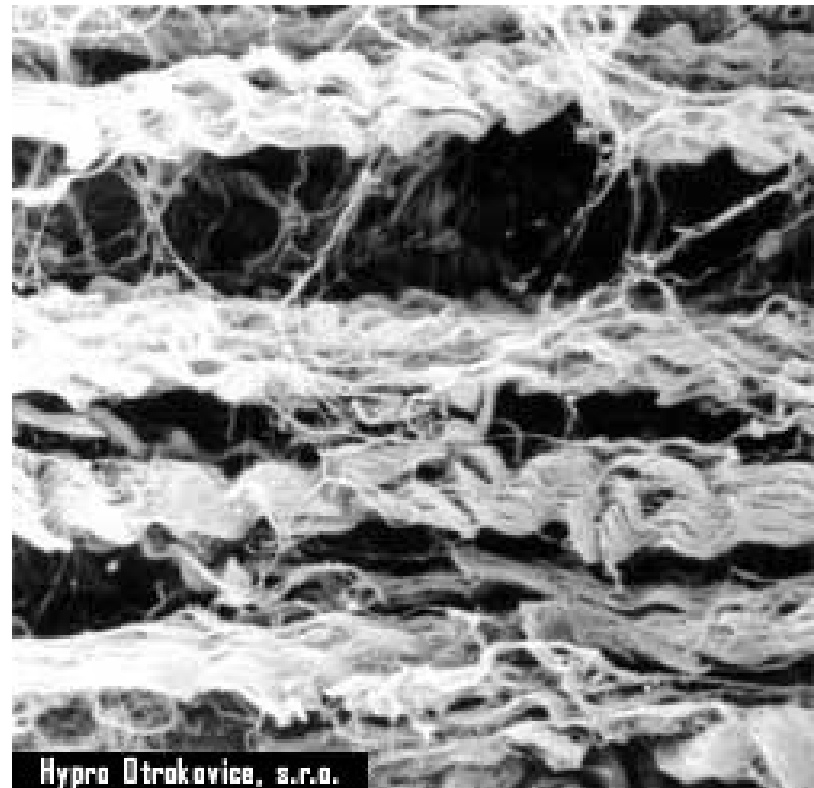
KVARTÉRNÍ STRUKTURA proteinů III

KOLAGEN jako příklad

Interakce mezi SLOŽENÝMI vláknitými strukturami svinutými do spirály v rámci již vytvořené **TERCIÁRNÍ STRUKTURY VZNIKÁ STRUKTURA KVARTÉRNÍ**.

Například u **KOLAGENU** se jedná o **PARALELNÍ SVAZKY TERCIÁRNÍ**

Svazky kolagenových vláken kvartérní struktury



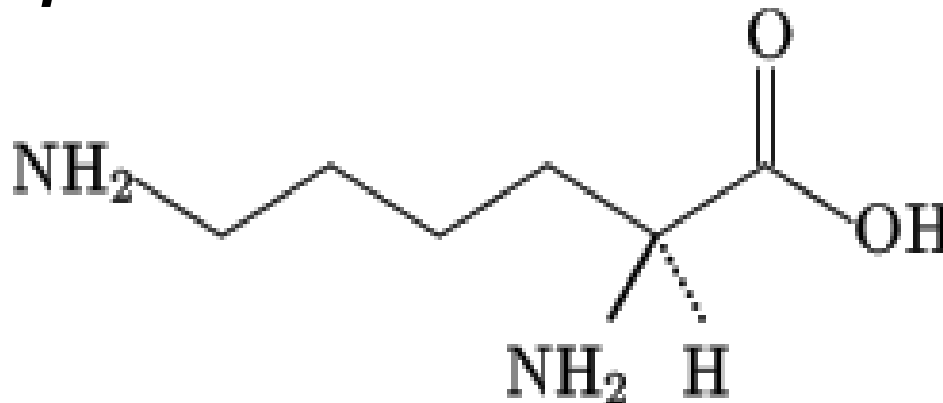
Hypro Otravice, s.r.o.

7. 12. 2016

KOLAGEN – PŘÍČNÉ VAZBY IN VIVO

- Vazby jsou založeny na reakcích oxidované – HN_2 skupiny **lyzinu** a reakcemi vzniklých skupin
- Reakce jsou hlavně INTRAMOLEKULÁRNÍ, ale také INTERMOLEKULÁRNÍ
- V tzv. MLADÉM KOLAGENU je méně příčných vazeb > vyšší rozpustnost
- V tzv. STARÉM KOLAGENU je VÍCE příčných vazeb > NIŽŠÍ rozpustnost

- **lyzin**



KOLAGEN – PŘÍČNÉ VAZBY IN VIVO 1

9.5 Povaha priečnoväzbových interakcií

9.5.1 Priečne väzby vyskytujúce sa in vivo

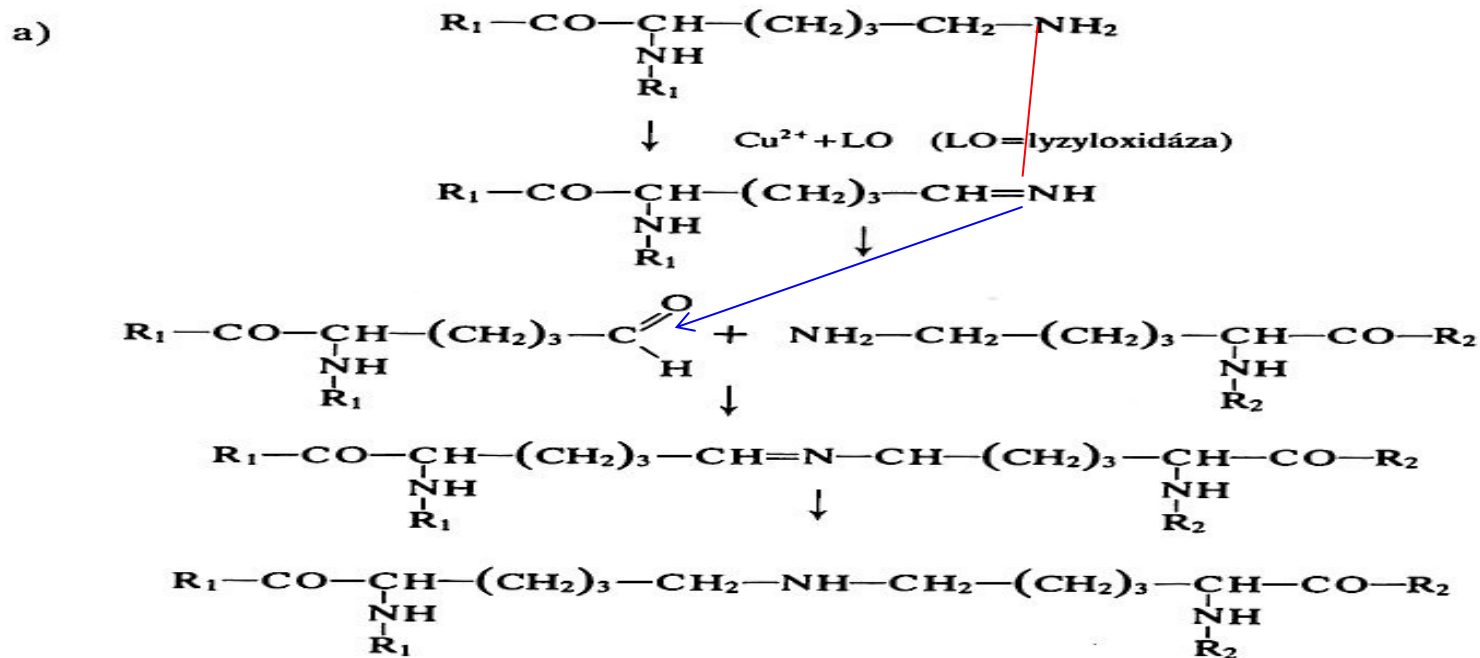
V ostatnom čase sa nahromadilo dosť dôkazov, ktoré umožňujú chemicky charakterizovať aspoň niektoré priečne väzby v kolagéne. Zásadne ide o tieto typy väzieb:

1. **Väzba lyzinonorleucínového typu**, v ktorej je priečnoväzbovým elementom N-(5-amino-5-karboxylpentanyl)lyzín. Oxidáciou ϵ -aminoskupiny lyzínu vzniká δ -semialdehyd kyseliny α -aminoadipovej (allyzín), ktorého kondenzáciou s nemoifikovaným zvyškom lyzínu iného polypeptidového reťazca vzniká aldimín (Schiffova báza) a po redukcii derivát, ktorému dali Franzblau a spol. (1965) triviálny názov lyzinonorleucín. Prvý typ väzby, t. j. lyzinonorleucín, pôvodne dokázali Franzblau a spol. (1965) ako priečnu väzbu v elastíne, a iba dodatočne sa zistila jeho prítomnosť v zosieťovaných kolagénových štruktúrach.

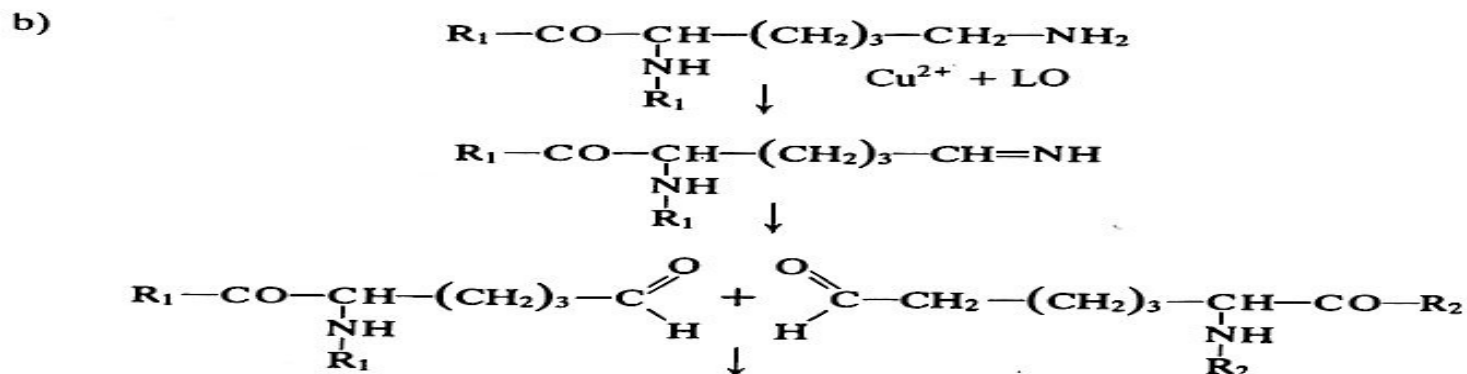
182

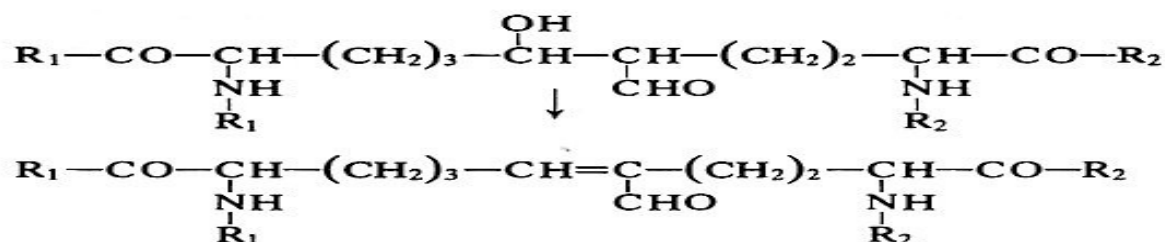
2. **Aldolová väzba** je v podstate alternatívnym riešením prvého prípadu. Aldolovou kondenzáciou dvoch oxidovaných zvyškov lyzínu, t. j. dvoch molekúl δ -semialdehydu kyseliny α -aminoadipovej, vzniká príslušný aldolový kondenzát. Za podmienok in vivo sa aldolový kondenzát vyskytuje častejšie ako lyzinonorleucín.

Schematicky možno znázorniť priebeh obidvoch reakcií takto :



Lyzinonorleucín [N_ϵ -(5-amino-5-karboxypentanyl)lyzín]

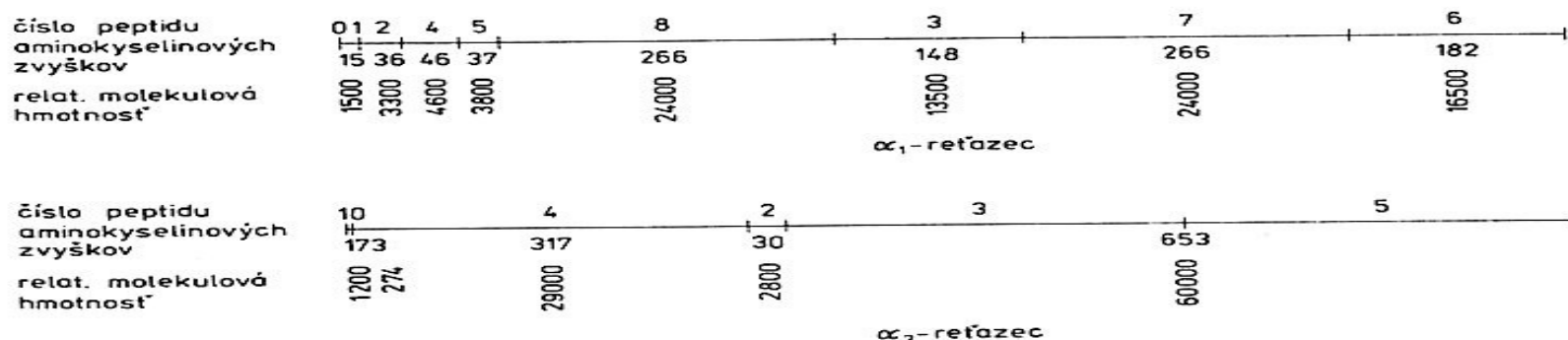




Na obidvoch reakciách sa môžu zúčastniť jeden alebo dva hydroxylované zvyšky. Možno teda očakávať prítomnosť všetkých kombinácií, ktoré vznikajú reakciami lyzínu, hydroxylyzínu, allyzínu a hydroxyallyzínu. Výskyt rozličných typov hydroxylovaných a nehydroxylovaných priečných väzieb odzrkadľuje aktivitu príslušného hydroxylujúceho enzýmu v príslušnom tkanive, alebo sa môže chápať ako faktor nevyhnutný na získanie žiadúcich vlastností daného tkaniva. Tak napríklad obsah hydroxylyzínu klesá v kolagéne kuracích kostí so starnutím (Miller a spol. 1967). Dá sa teda očakávať, že povaha priečných väzieb sa bude meniť v ontogenéze. Stupeň hydroxylácie lyzínových zvyškov v N-koncovej časti molekuly, ktoré sa zúčastňujú na vzniku priečných väzieb, je v rozličných tkanivách odlišný; tieto lyzínové zvyšky sa značne hydroxylujú v kolagéne kostí, kým v kožnom kolagéne sa vôbec nehydroxylujú. V kolagéne šľachy z chvosta potkana je stupeň hydroxylácie všeobecne nízky. V kolagéne kuracích šliach, ktorý je oveľa menej rozpustný ako kolagén šľachy z chvosta potkana, je hydroxylovaná asi tretina týchto zvyškov (Barnes a spol. 1971). Niektorí autori sa dokonca nazdávajú, že za podmienok in vivo vôbec neprebíha posledná zo sledu reakcií, pri ktorej vzniká lyzinonorleucín, t. j. redukcia dehydrolyzinonorleucínu, a že izolácia lyzinonorleucínu z prírodných materiálov je výsledkom pôsobenia borohydridu sodného (Bailey a Peach 1971). Hlavnými stabilizujúcimi elementmi kolagénu šliach je teda dehydrohydroxylyzinonorleucín a dehydrolyzinonorleucín. Siegel a Martin (1970) dokázali, že allyzín sa môže tvoriť tak v reťazci α_1 , ako aj v reťazci α_2 , pričom tejto reakcii podlieha v reťazci α_1 Lys₉ a v reťazci α_2 Lys₅ aj napriek tomu, že mnoho ďalších lyzínových zvyškov v molekule kolagénu je stéricky umiestnených tak, že môžu byť preklenuté väzbou porovnateľnej dĺžky (Rosmus a spol. 1973). Kang a spol (1970) naznačili, že dozrievanie kolagénu môže súvisieť s prešmykom intramolekulovo lokalizovaného aldolu na intermolekulový lyzinonorleucín.

Priamu analytickú identifikáciu spomínaných priečných väzieb a prípadne z nich vznikajúcich fragmentov umožnili práce Mechanica (1971) a Davisona a spol. (1972), ako aj Cannona a Davisona (1973). Uvedené priečnoväzbové elementy možno od seba oddeliť chromatografiou na stĺpci vymieňača iónov (Aminexu A 5).

Popri uvedených priečných väzbách, ktorých existencia bola dokázaná v rozpustných frakciách, istotne jestvuje aj veľa ďalších priečnoväzbových interakcií, najmä v nerozpustnom kolagéne, ktorých priame dôkazy však dosiaľ nepoznáme. Na prvom mieste treba rozobrať otázku, ako ďaleko od koncovej oblasti tropokolagénovej molekuly sa môžu vyskytovať väzby odvodené z lyzínu. Nepriamy pozitívny dôkaz podali Deshmukh a Nimni (1971), ktorí zistili, že v nerozpustnom kolagéne, solubilizovanom cysteamínom (pH 7,0), sú prítomné voľné aldehydové skupiny v brómkyánových štiepoch α_1 CB 7 a α_1 CB 8 (obr. 9.10). Podobná situácia je aj

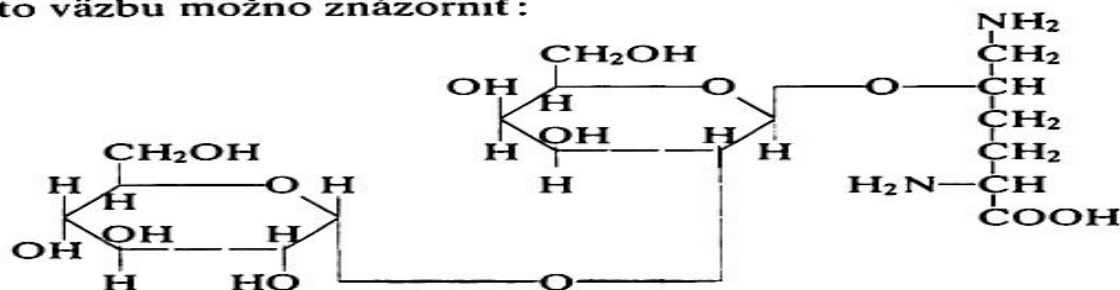


Obr. 9.10. Zaraďovanie brómkyánových štiepov α_1 -reťazca a α_2 -reťazca kolagénu z kože potkana.

v reťazci α_2 , v ktorom sa voľné aldehydové skupiny detegovali na štiepoch α_2 CB 3, 4 a 5. Redukcia brómkyánových štiepov pôsobením NaBT₄ viedla ku konštatovaniu, že hlavným rádioaktívnym produktom je ϵ -hydroxynorleucín, t. j. látka vznikajúca redukciou δ -semialdehydu kyseliny δ -hydroxy- α -aminoadipovej. Pri dlhodobej inkubácii kolagénového preparátu pri izbovej teplote pík ϵ -hydroxynorleucínu prakticky mizne a na chromatograme sa zjaví maximum, ktoré podľa citovaných autorov patrí aldimínu. Z týchto experimentov možno uzavrieť, že sa získal nielen pozitívny dôkaz možnosti vzniku priečných väzieb odvodených z lyzínu mimo terminálnej oblasti kolagénovej molekuly, ale aj dôkaz o tom, že mimo terminálnej oblasti dominujú interakcie aldimínového typu. Teda nepriamo sa zistilo, že vznik aldolových kondenzátov je obmedzený na N-koncovú oblasť tropokolagénovej molekuly. Deshmukh a Nimni (1971) ďalej dokázali, že konverzia aldimínu v netelopeptidovej oblasti na stabilný produkt lyzinonorleucín alebo jeho hydroxyderivát je nezvyčajne pomalá reakcia, ktorá dosahuje rovnováhu iba po 8 týždňoch. Týmito faktmi možno vysvetliť pomalé dozrievanie kolagénu in vitro. Pochybnosti o uvedených výsledkoch prináša práca Volpina a Veisa (1971), ktorí izolovali brómkyánové štiepy z nerozpustného kolagénu a na rozdiel od Deshmukha a Nimni-

galaktózu sa realizuje na uhlík C₂. Kolagén rohovky obsahuje štyridsaťkrát viac Glu–Gal–Hylys ako kolagén hovädzej šľachy alebo plynového mechúra rýb. Kolagén hovädzej šľachy obsahuje Glu–Gal–Hylys alebo iba Gal–Hylys.

Galaktóza sa viaže na hydroxylyzín za účasti špecifickej galaktozyltransferázy ; na galaktózu sa glukóza viaže pomocou špecifickej glukózotransferázy (Spiro a Spiro 1968). Túto väzbu možno znázorniť :



Podnes nemáme k dispozícii dôkaz o tom, že by sa uvádzané glykozidové zvyšky priamo zúčastňovali na vzniku priečnoväzbových interakcií v kolagéne. Možno však uvažovať o tom, že lyzínové zvyšky sa môžu modifikovať tak, že nevstupujú do zvyčajných priečnoväzbových interakcií. Nie je totiž známe, či glykozylovaný hydroxylyzín môže podliehať kondenzácii s voľnou aldehydovou skupinou, resp. či môže na ňom prebiehať oxidatívna deaminácia. Doterajšie štúdie, uskutočnené najmä na kolagéne bazálnych membrán, nepriniesli nijaký dôkaz o prítomnosti glukózogalaktozylhydroxylyzinonorleucínu.

Možno si však predstaviť, že vzniká aldimínový typ väzby medzi lyzínom a aldehydovou skupinou aldózy. Tento typ väzby sa naozaj dokázal (Tanzer a spol. 1972). Predpokladá sa, že táto väzba spája kolagén s inou sacharidovou štruktúrou.

Kolagén neobsahujúci hydroxylyzín (napr. v kožnom vaku dáždovky) má cukorné zložky viazané na hydroxyskupinu serínu a treonínu. V kolagéne, ktorý obsahuje cysteín (napr. v kolagénoch typu III a IV alebo v extenznom peptide, alebo u nižších živočíchov), zistili sa ako priečne väzby disulfidové väzby (Kefalides a Winzler 1966).

Poslednou kategóriou priečných väzieb sú väzby, ktoré sa vyskytujú v kolagéne vyšších stavovcov síce za fyziologických podmienok, ale s najväčšou pravdepodobnosťou nie je ich výskyt cieľavedome regulovaný organizmom. Ide o priečne väzby, na ktorých štruktúre sa zúčastňuje tyrozínový zvyšok. O ich existencii však dosiaľ niet priameho dôkazu. Predpokladá sa väzba dopachinónu alebo alternatívne možnosť priečnej väzby typu Pumererovho ketónu (Vančíková a spol. 1974) alebo dityrozínu (Michlík a spol. 1974).

Väzby, o ktorých sa dosiaľ hovorilo, boli kovalentné. Hoci väzby kovov nepatria do kategórie priečných väzieb kolagénu, pokladáme za nevyhnutné aspoň stručne sa zmieniť o existencii koordinačných väzieb sprostredkovaných atómom kovu. Za

fyziologických podmienok prichádza do úvahy ako nový atóm predovšetkým vápnik (Steven 1967). V zásade sa môže zúčastniť na tejto väzbe každý kov schopný tvoriť koordinačnú väzbu s funkčnými skupinami kolagénu. Ako donory elektrónových párov prichádzajú do úvahy predovšetkým kyslík, dusík a síra (Adam a spol. 1970).

Dosiaľ sa preberali priečne väzby z chemického hľadiska. Pre kolagénové štruktúry, resp. pre ich funkciu, má nesmierny význam poloha týchto priečných väzieb v polypeptidových reťazcoch, ako aj ich priestorová distribúcia. V zásade delíme priečne väzby na väzby intermolekulové a intramolekulové. Intramolekulové priečne väzby sa realizujú na N-konci reťazca, ako sme už uviedli. Podľa predstáv Kühnovej školy intermolekulové väzby zabezpečujú mechanickú funkciu kolagénu trojakého typu (obr. 9.11):



Obr. 9.11. Schematické usporiadanie tropokolagénových jednotiek do fibríl v pozdĺžnom reťazci s označením jednotlivých druhov priečných väzieb.

1. *Head-to-tail*, keď N-koniec jednej molekuly sa viaže s C-koncom inej molekuly.
2. *End-to-end*, keď vzniká väzba medzi lyzíni N-terminálnych oblastí rozličných molekúl. Vzhľadom na priestorové usporiadanie niektorej susednej molekuly nie sú totiž proti sebe posunuté.
3. *Side-to-side*, keď vzniká priečna väzba v oblasti vlastného tela molekúl tropokolagénu.

9.5.2 Priečne väzby v kolagéne in vitro

Technicky významné modifikačné reakcie kolagénu majú praktické uplatnenie v technológii kože, vo výrobe kožušín, umelých čriev, semisyntetických usní, ako aj pri zušľachtovaní želatíny. Pri týchto modifikáciách kolagénu ide o nevratné priečnoväzbové interakcie v kolagéne účinkom difunkčných a polyfunkčných vyčisňujúcich látok, v dôsledku čoho nastávajú v kolagéne fyzikálne aj chemické zmeny. Keď je činiaca látka viazaná jednobodovo na jednu funkčnú skupinu alebo intramolekulovo, má funkciu aktívneho plnidla, ale neprejavuje sa na zvýšení hydrotermálnej stability charakterizovanej hodnotou T_s (teplotou zmraštenia).

Činiace látky môžeme rozdeliť do dvoch základných skupín:

KOLAGEN – hierarchie struktur

Strukturní hierarchie kolagenu a přiřazené obory použití

Strukturní rovina	Obor použití / produkty
Pletivo vláken/plocha	výroba usní, krytí ran, náhrada pokožky (kožní implantáty), náhrada cév
Vlákná	střívka z kolagenových past, obalové fólie, membrány, hemostyptika, prášek na rány
Fibrily	biokompatibilní plastové nebo keramické materiály, kostní a čelistní chirurgie
Makromolekuly	nativní kolagen, atelokolagen, desamidokolagen pro kosmetiku a medicínu
Polypeptidy	želatina, klíh, hydrolyzáty kolagenu, expandéry plasmy, kapsule, želatinační prostředky, tensidy, emulgátory, zahušťovadla, krmiva, hnojiva

KOLAGEN – použití v medicíně

Kolagenové medicínské preparáty podle druhu a oboru použití

Výrobky

Použití

Šicí vlákna – **catgut**

chirurgický šicí materiál

Kolagenová vlákna – z roztoků
– ze suspenzí
– z membrán

zakrývání ran/léčení ran
zastavování krvácení
(hemostatika)
náhrada pokožky

Kolagenové plochy
přirozená pokožka
membrány, bandáže
netkané textilie
pěny/ houby

náhrada cév/vykládání cév
organove implantáty
plniva pro implantáty

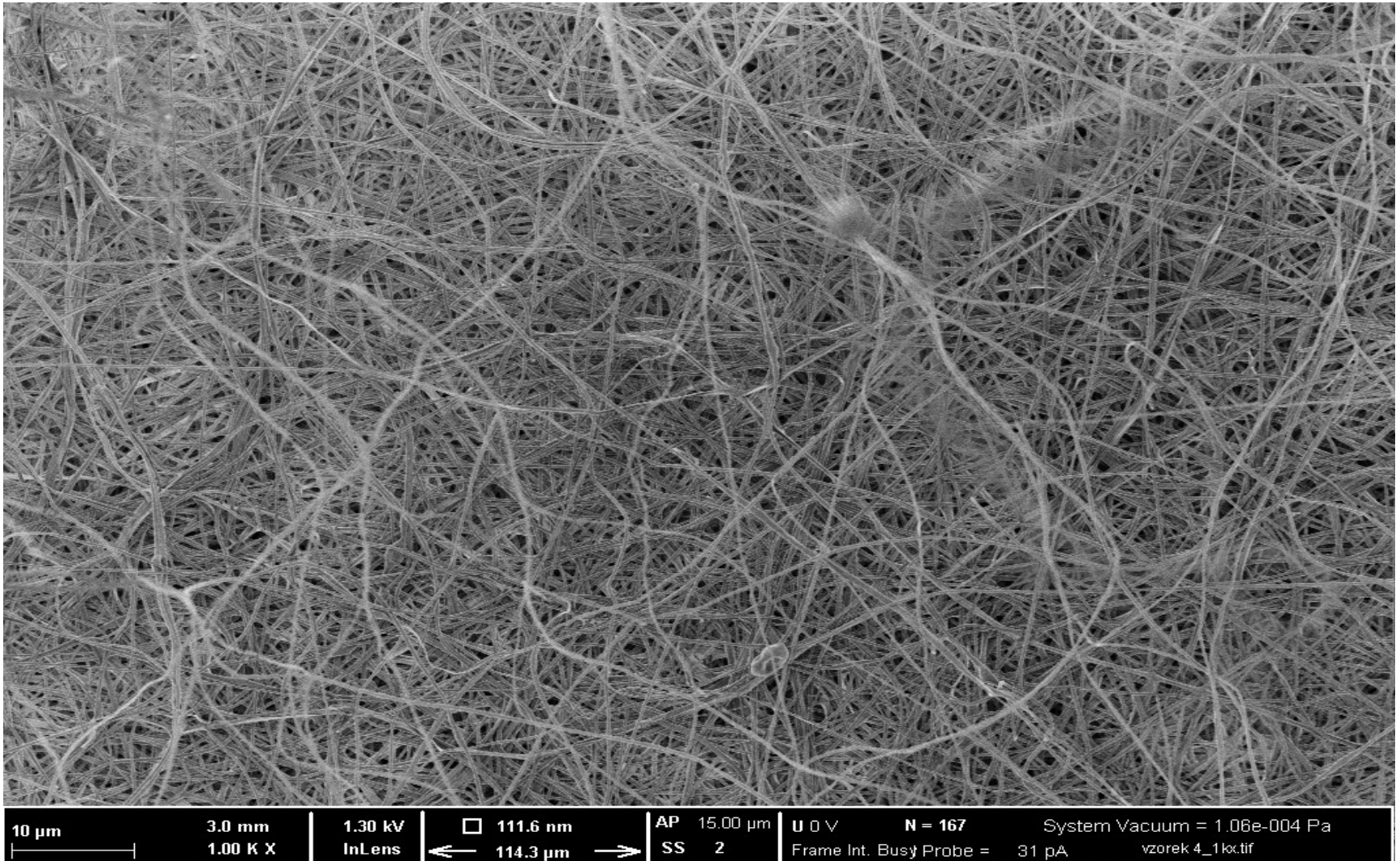
Cévy/orgány

vazivové opravy
lepení tkání
proliferace buněk

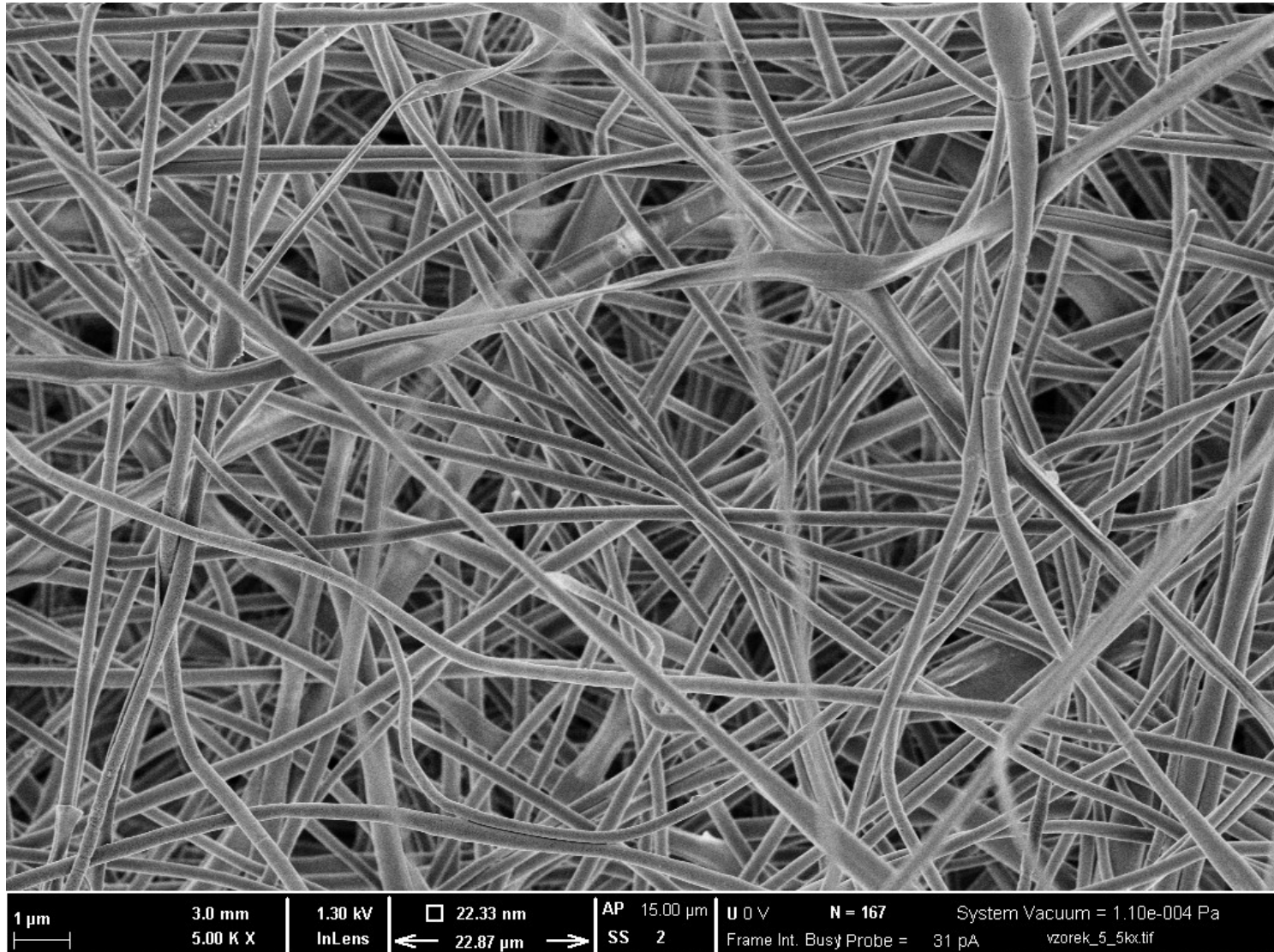
Kolagenové prášky, lepidla,
pudry a spreje

péče o pleť

KOLAGEN – nanovláčna 1 (laskavostí CONTIPRO)



KOLAGEN – nanovláčna 2 (laskavostí CONTIPRO)

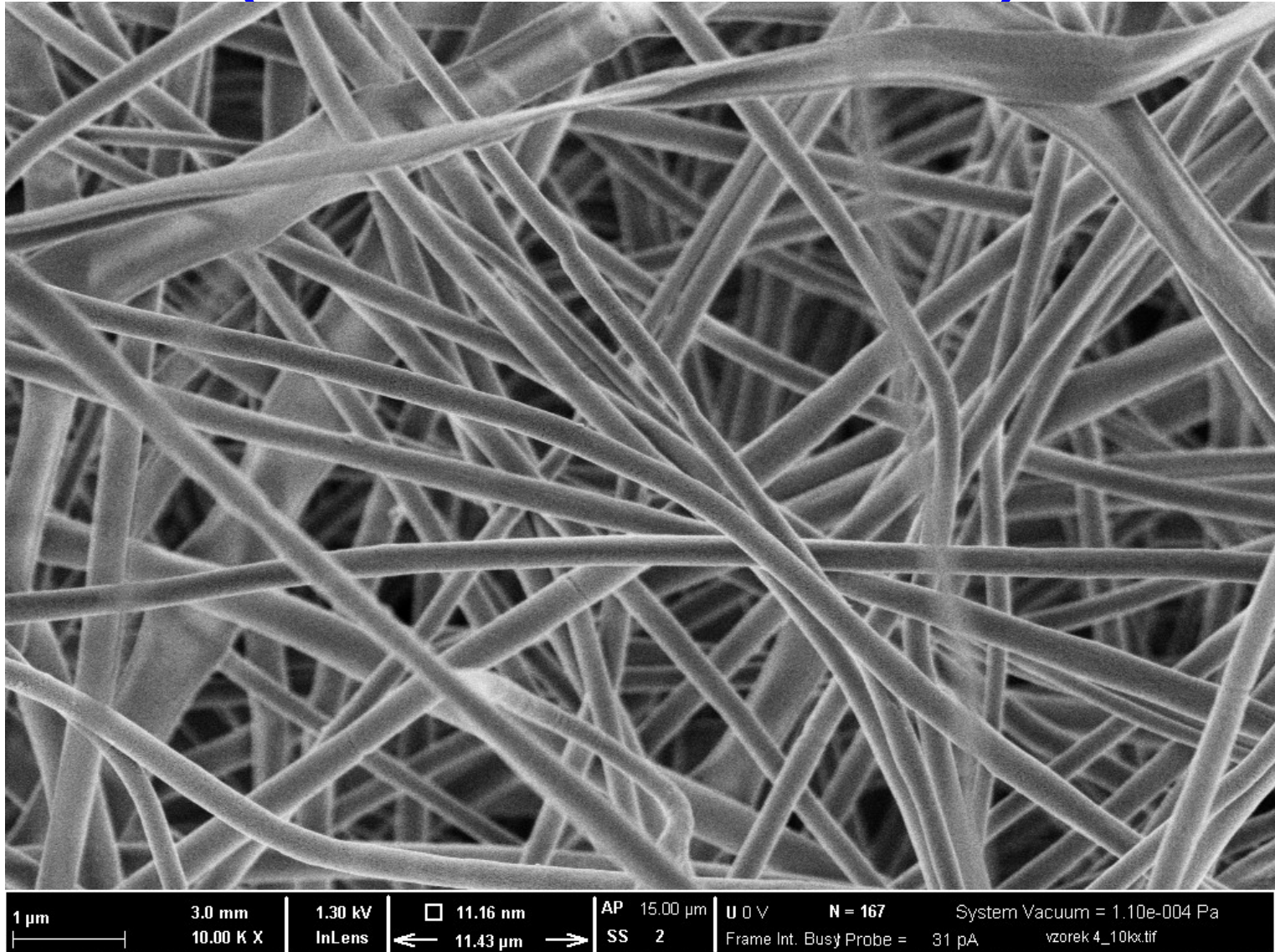


7. 12. 2016

PŘÍRODNÍ POLYMERY PŘF MU
9 2016 BÍLKOVINNÁ VLÁKNA I

52

KOLAGEN – nanovláčna 3 (laskavostí CONTIPRO)



7. 12. 2016

PŘÍRODNÍ POLYMERY PRF MU
9 2016 BÍLKOVINNÁ VLÁKNA I

53

KOLAGEN – ceny pro kosmetiku, vodorozpustný

US \$12 - 18 / Kilogram

**100% Soluble In Water Solubility Hydrolyzed
Collagen For Hair**

**Supply Ability: 300 Ton/Tons per Month Fish
Collagen**

ZEMĚ PŮVODU: ČÍNA (ČLR)

US \$12 - 18 / Kilogram

FOOD GRADE

**Supply Ability: 300 Ton/Tons per Month Fish
Collagen**

ZEMĚ PŮVODU: ČÍNA (ČLR)

KOLAGEN – rozpustnost

Some cosmetics include soluble or **hydrolyzed collagen**. In this case, the collagen molecules have been broken down into much smaller fragments, which are able to penetrate the skin's surface.

ROZPUSTNOST KOLAGENU ZÁVISÍ NA:

- **MW > hydrolyzované typy jsou rozpustnější, a to i ve vodě**
- **pH,**
- **.....**

KOLAGEN jako předmět chemických reakcí

Místem reakce bývá aminoskupina (-NH₂)

ČLÁNEK (např.):

*Synthesis and properties of some **gelatin derivatives** with substituents at the amino groups*

J. Chem. Techn. and Biotechnology, 15, (1965), 479

- pokud možno **POLYMERANALOGICKÉ PŘEMĚNY**, tj. bez změn MW,
- hlavně se jednalo o modifikace pro fotografické emulze > PATENTY,
- nyní pro substráty na pěstování buněk,
- řada patentů i publikací.

KOLAGEN jako předmět chemických reakcí

Chemická modifikace

reakce s monofunkčními reagenty

- **acylace** (acetanhydrid + aminoskupiny)
- **esterifikace** (dimethylsulfátem, bezvodým methanolem) – mění průběh křivky botnání, struktura a nerozpustnost je zachována
- **deaminace** (směs dusitanu sodného a ledové kyseliny octové) - aminoskupiny → hydroxylové skupiny; změna křivky botnání
- **deguanidinace** – arginin → ornitin + močovina nebo citrulin + amoniak

KOLAGEN jako předmět chemických reakcí

Chemická modifikace

reakce vedoucí ke tvorbě síťovaného gelu

- větší pružnost, odolnost k proteázám, nižší stupeň nabotnění → lepší produkt
- **aldehydová kondenzace** (glutaraldehyd tvoří můstky) → dvojitá *Schiffova báze* – větší odolnost vůči kyselé nebo vysokoteplotní hydrolyze
- **oxidace jodistanem** (5-hydroxyprolin → aldehyd → + aminoskupiny lysinů → síť) → větší mechanická pevnost,

KOLAGEN jako předmět chemických reakcí

Chemická modifikace

reakce se syntetickými polymery (povrchová imobilizace)

- potažení porézního KOPOLYMERU polyethylenu s kyselinou akrylovou kolagenem vázaným k povrchu kovalentní amidovou vazbou (mezi karboxylovými skupinami kyseliny akrylové a aminoskupinami molekul kolagenu) → zvýšení biokompatibility implantátů

PŘÍKLAD

Potahování cévních náhrad z PET pleteniny

Medicínské aplikace KOLAGENU 1

- ze střev stočená **šicí vlákna** (“**catgut**”) – resorbovatelnost se řídí zesíťováním solemi chromu
- kožní štípenky, netkané textilie, fixované pěny → radiačně-chemická sterilizace → **zakrytí ran a popálenin**
- sprejová **bandáž na rány** (práškový kolagen)
- **oprava cév, náhrady šlach**
- **pěstování buněčných kultur *in vitro***
- kombinace s Goretexem, Poromeriksem – brání vysušení

Medicínské aplikace KOLAGENU 2

- **hemostyptika, membrány, netkané textilie**
zástava krvácení, hojení operačních ran
- **teflonové hadice vyložené kolagenem >**
CÉVNÍ NÁHRADY
- **kombinace s fosforečnanem vápenatým →**
náhrada kostí a zubů
- **vstříkování mikrokapslí napuštěných**
účinnou látkou – hojení ran
- **kolagenová lepidla v chirurgii**
- **s polyakryláty – kontaktní čočky**

Výrobci kolagenních preparátů v tuzemsku – dva příklady

STOSPOL, s.r.o., Valašské Meziříčí
***GEPROCOL* (ENZYMATICKÝ HYDROLYZÁT KOLAGENU), doplněk stravy s stopovým množstvím Cr⁺³**

Hypro, s.r.o., Otrokovice
Používá hovězí kolagen
***Hypro-sorb* (krycí roušky, hemostatické vstřebatelné plsti a další medicínské aplikace)**

3. Výroba želatiny a klišu
TANEX, Vladislav u Třebíč
Snímky pořízeny při exkurzi

Výroba želatiny a klihu suroviny nevypadají vábně 1!



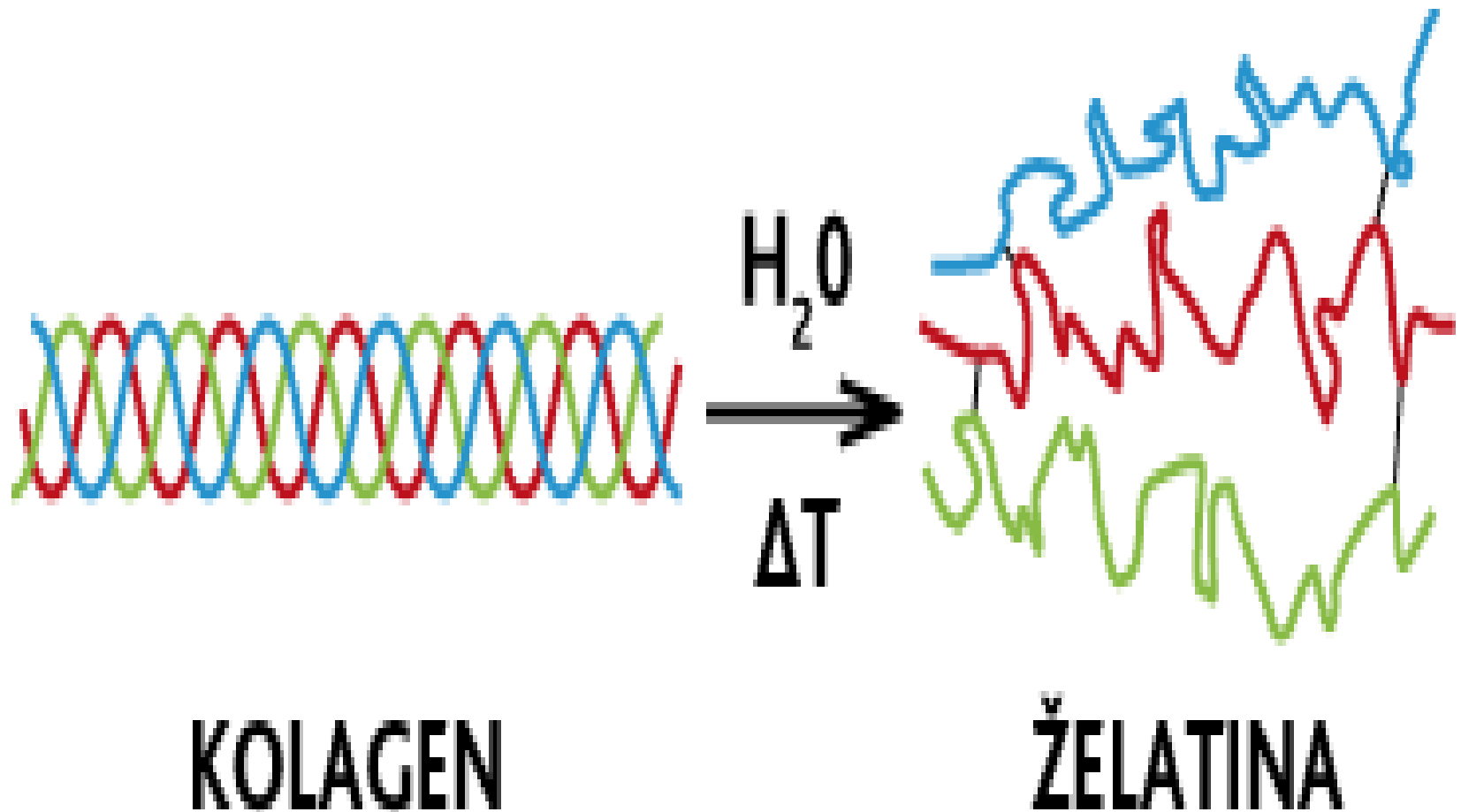
**Jateční odpad z vepřového dobytka
Kůže, uši atd.**

Výroba želatiny a klihu suroviny nevypadají vábně 2!



**Jateční odpad z vepřového dobytka
Kůže, uši atd.**

Výroba želatiny a klišu základní schéma



I. príklad varenia gleja a želatíny

Parametre	Poradie vylúhovania			
	1	2	3	4
Výrobok	Jedlá a fotografická želatína	Želatína I. akosti	Želatína II. akosti	Technická želatína a glej
Teplota (°C)	50 až 55	60 až 65	70 až 75	85 až 100
Čas (h)	5	5	5	5
pH	5 až 7	5 až 7	5 až 7	5 až 7
Koncentrácia (%)	3 až 8	3 až 8	10	12 a viac

**Lepší suroviny & MÍRNĚJŠÍ
PODMÍNKY >
ŽELATINA**

**Horší suroviny & DRSNĚJŠÍ
PODMÍNKY > KLIH**

PODMÍNKY > KLIH

Tabuľka 16 – 3b

II. príklad varenia gleja a želatíny

Parametre	Poradie vylúhovania			
	1	2	3	4
Výrobok	Jedlá a fotografická želatína	Technická želatína	Glej	Glej
Teplota (°C)	65 až 70	80 až 85	95 až 100	100
Čas (h)	8	8	8	8
pH	5 až 7	5 až 7	5 až 7	5 až 7
Koncentrácia (%)	8	8	8	8

SUROVINY:

• **ODPAD Z KOŽELUŽEN a jatek (kůže a usně) > KOŽNÍ KLIH**

• **ODPAD Z JATEK (kosti) > KOSTNÍ KLIH**

Výroba želatiny a klihu

TECHNOLOGICKÉ KROKY

1. Praní klišovky (odstranění konzervantů – $\text{Ca}(\text{OH})_2$) a okyselení na pH 6,2 – 6,5 pomocí HCl nebo H_2SO_4
2. Vaření **želatiny a klihu** > přeměna kolagenu na **GLUTINOVÝ** roztok (! NE gluten!), **postupně v několika vařeních**, až zbude jen cca. 2 – 5 % vsázky, např. odpadních kůží a usní
3. Filtrace – odstranění nečistot
4. Konzervace a bělení – SO_2 nebo H_2O_2
5. Zahušťování v odparce
6. Ochlazení a formování > **KLIHOVÁ GALERTA**
7. Sušení na obsah vody 12 – 15 %
8. Sekání na kostičky nebo mletí na drť

Výroba želatiny a klihu

TECHNOLOGICKÉ ODPADY

- 1. KOŽNÍ TUK** > rafinace > prodej nebo výroba mýdla
- 2. Odfiltrované nečistoty** > bioplyn nebo skládka nebo spalování

Výroba klišu PŘÍKLAD SORTIMENTU I TANEX Vladislav

Kožní kliš a technická želatina je směs **glutinu** a menšího množství jeho štěpných produktů. Vyrábí se vyluhováním nečinných kůží a kožních odpadů teplou vodou. Kliš je dodáván v zrnité konzistenci s nepravidelnou velikostí zrn a to drcený (průměr zrn cca 1,5 - 2,5 mm) a nedrcený (průměr zrn cca 3,5 - 4,5 mm). Používá se k různým účelům v textilním, chemickém, dřevařském, papírenském a polygrafickém průmyslu.

Glutin = málo přečištěná želatina

Výroba klišu PŘÍKLAD SORTIMENTU II

TANEX Vladislav



TECHNICKÁ ŽELATINA

Bod tání:	31 °C
Báze:	kožní kliš v suchém stavu
Barva:	světle žlutá
Charakter filmu:	tvrdý
Viskozita:	3 - 5,5 Engler (min)
Popel:	do 1 - 2 %
Pracovní teplota:	60 - 80 °C
Obsah vody:	do 14 % (max)
Pokles viskozity:	10 -15 (max)
pH 1% roztoku:	6,5 - 7,2
Pevnost gelu:	200 - 350 Bloom/g (min)
Obsah tuku :	0,3 - 0,5 %

Výroba klihu PŘÍKLAD SORTIMENTU III

TANEX Vladislav

**S vysokou
PĚNIVOSTÍ
& NÍZKÝM
OBSAHEM
TUKU**

SIRKÁRENSKÝ KLIH	
Bod tání:	31 °C
Báze:	kožní klich v suchém stavu
Barva:	žlutá až tmavohnědá
Charakter filmu:	tvrdý
Viskozita:	min. 5 Engler (min)
Popel:	1 - 2 %
Pracovní teplota:	60 - 80 °C
Obsah vody:	do 14 % (max)
Pokles viskozity:	10 - 15 (max)
pH 1% roztoku:	6,5 - 7,2
Pevnost gelu:	280 - 340 Bloom/g (min)
Obsah tuku :	0,3 - 0,5 %

Výroba klihu PŘÍKLAD SORTIMENTU IV

TANEX Vladislav

KLIH TOPAZ SPECIÁL

Bod tání:	31 °C
Báze:	kožní klich v suchém stavu
Barva:	žlutá až tmavohnědá
Charakter filmu:	tvrdý
Viskozita:	5 - 6 Engler (min)
Popel:	do 3 %
Pracovní teplota:	60 - 80 °C
Obsah vody:	do 15 % (max)
Pokles viskozity:	10 - 15 (max)
pH 1% roztoku:	6 - 7,5
Pevnost gelu:	280 - 340 Bloom/g (min)
Obsah tuku :	4 %

KLIH TOPAZ SPECIÁL		SIRKÁRENSKÝ KLIH	TECHNICKÁ ŽELATINA
Bod tání:	31 °C	31 °C	31 °C
Báze:	kožní kliš v suchém stavu	kožní kliš v suchém stavu	kožní kliš v suchém stavu
Barva:	žlutá až tmavohnědá	žlutá až tmavohnědá	světle žlutá
Charakter filmu:	tvrdý	tvrdý	tvrdý
Viskozita:	5 - 6 Engler (min)	min. 5 Engler (min)	3 - 5,5 Engler (min)
Popel:	do 3 %	1 - 2 %	do 1 - 2 %
Pracovní teplota:	60 - 80 °C	60 - 80 °C	60 - 80 °C
Obsah vody:	do 15 % (max)	do 14 % (max)	do 14 % (max)
Pokles viskozity:	10 - 15 (max)	10 - 15 (max)	10 -15 (max)
pH 1% roztoku:	6 - 7,5	6,5 - 7,2	6,5 - 7,2
Pevnost gelu:	280 - 340 Bloom/g (min)	280 - 340 Bloom/g (min)	200 - 350 Bloom/g (min)
Obsah tuku :	4 %	0,3 - 0,5 %	0,3 - 0,5 %

Výroba klišu PŘÍKLAD DALŠÍHO SORTIMENTU

TANEX Vladislav

1. KRÁLIČÍ KLIH

2. TOPAZ I - pro náročné zákazníky

3. TOPAZ II - NEJPRODÁVANĚJŠÍ DRUH

4. Kožní kliš K2 – náhrada kostního klišu

KOŽNÍ versus KOSTNÍ kliš

- Kožní kliš dává lepší vlastnosti

POSTUPNÉ VAŘENÍ KLIHU

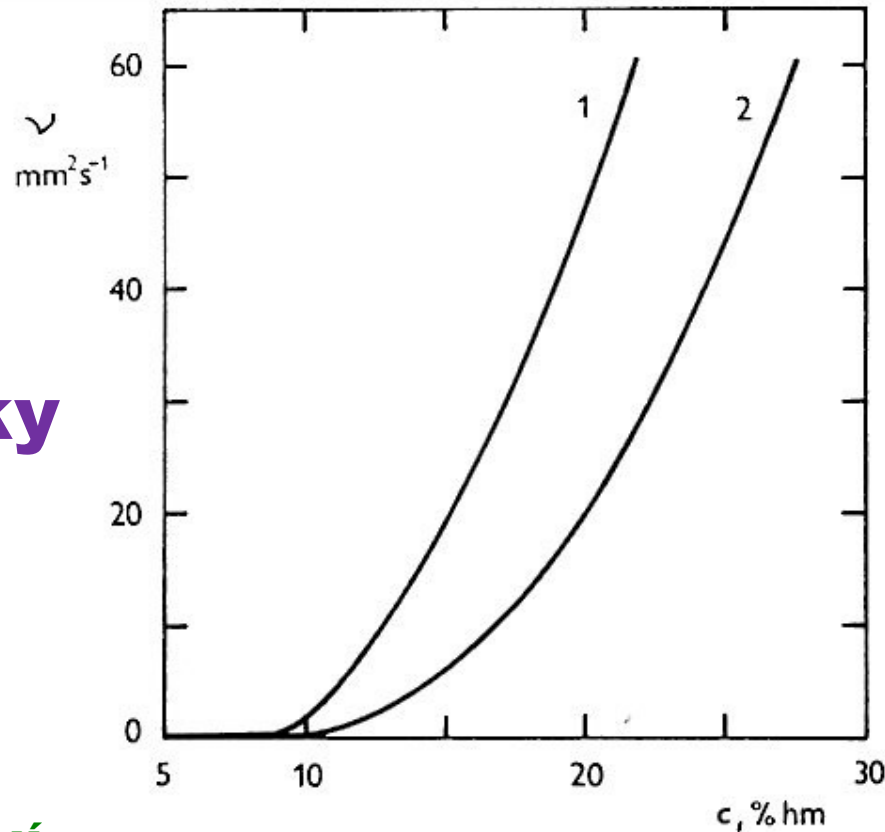
- První vaření dává nejlepší kliš, protože dlouhé makromolekuly kolagenu jsou nejméně hydrolyzované na kratší makromolekuly

Klih & ŽELATINA a KONZERVÁTOR – RESTAURÁTOR I

- **ŽELATINA OBSAHUJE MÉNĚ
NÍZKOMOLEKULÁRNÍCH LÁTEK NEŽ KLIH**
- Do 20°C želatina ve vodě jen silně bobtná
- Želatina bobtná víc než klihy
- Nad 35 °C tvoří želatina viskózní roztoky
- Po ochlazení roztoků vytváří želatina GEL již při nízké koncentraci pod 1 % hmot.
- Vlivy na viskozitu mají i soli či formaldehyd (TEN VYTVÁŘÍ NEROZPUSTNÉ GELY)
- Podobná je reakce s ionty Al, Cr a Fe > činění kůží
- Nadměrným zahříváním nad 35 °C klesá MW a tím i viskozita a zhoršují se vlastnosti

Klíh & ŽELATINA a KONZERVÁTOR – RESTAURÁTOR II

POZOR!
SI jednotky



$$1 \text{ St} = 1 \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1} = 10^{-4} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$$

$$1 \text{ cSt} = 1 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1} = 10^{-6} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$$

kinematická viskozita
(vazkost)

$$v = \eta / \rho$$

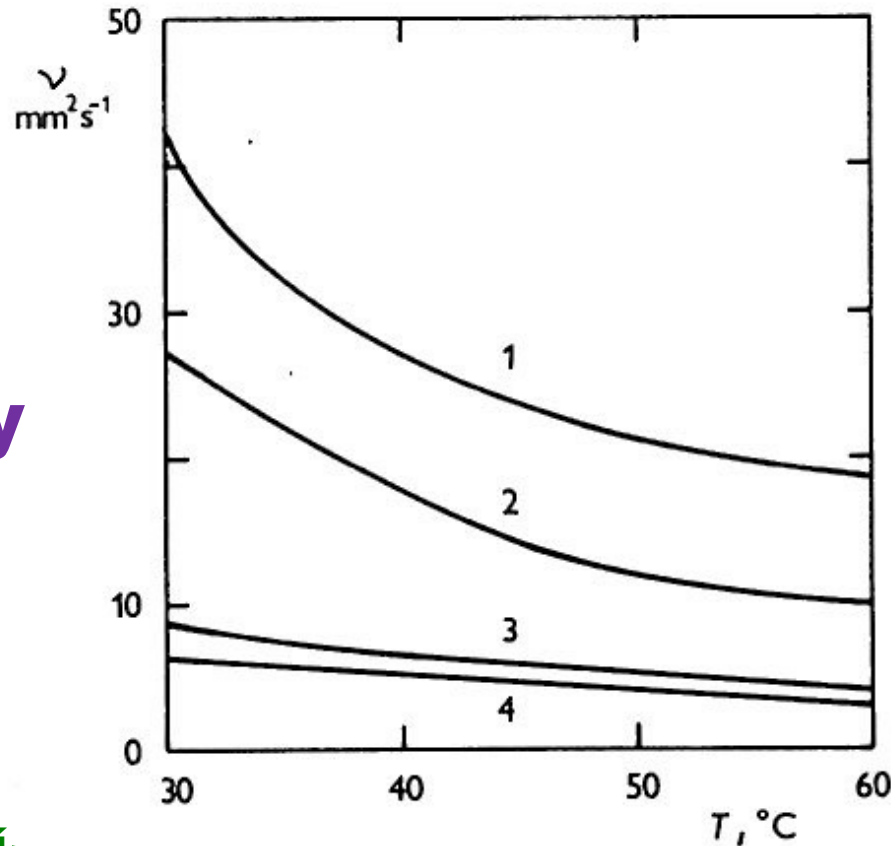
**CHYBNÉ
OZNAČENÍ**

Obr. 11 Závislost kinematické viskozity η vodného roztoku klihu na koncentraci c^5 . 1 – kožní klíh, 2 – kostní klíh.

1 cSt > centistoke (podle G. G. Stokes)

Klih & ŽELATINA a KONZERVÁTOR – RESTAURÁTOR III

POZOR!
SI jednotky

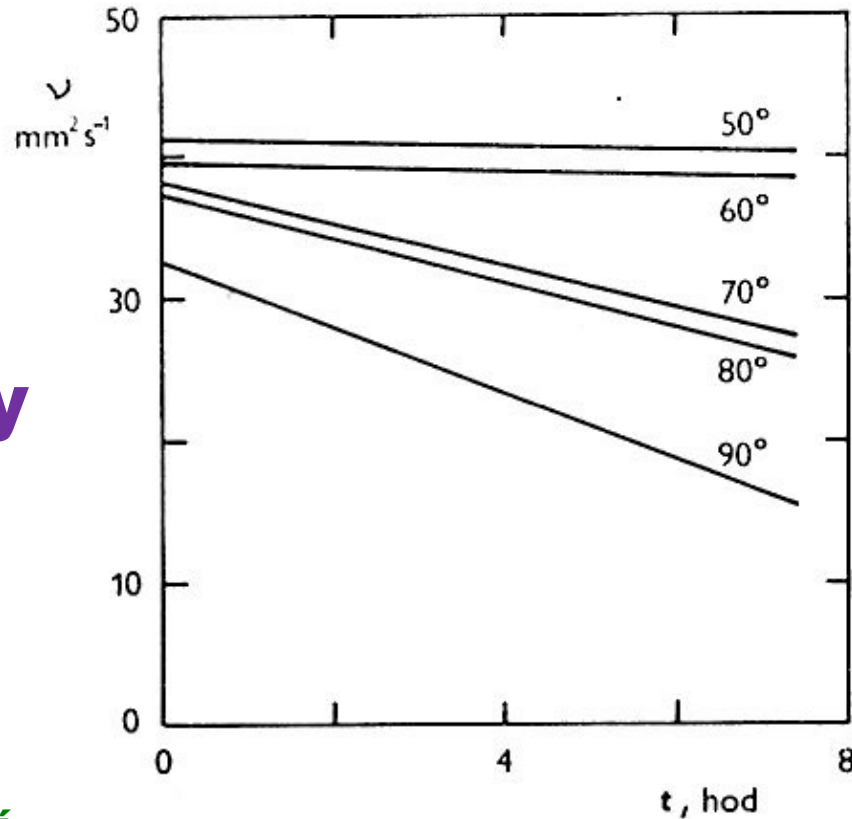


**CHYBNÉ
OZNAČENÍ**

Obr. 12 Závislost kinematické viskozity η vodných roztoků klišu na teplotě T° . 1–17,75 % roztok kožního klišu, 2–15 % roztok kožního klišu, 3–17,75 % roztok kostního klišu, 4–15 % roztok kostního klišu.

Klih & ŽELATINA a KONZERVÁTOR – RESTAURÁTOR IV

POZOR!
SI jednotky



**CHYBNÉ
OZNAČENÍ**

Obr. 13 Závislost kinematické viskozity η na době zahřívání t při různých teplotách vodného roztoku kožního klišu⁵.

Klih & ŽELATINA a KONZERVÁTOR – RESTAURÁTOR V

HLAVNÍ PARAMETRY KVALITY želatiny a klihu

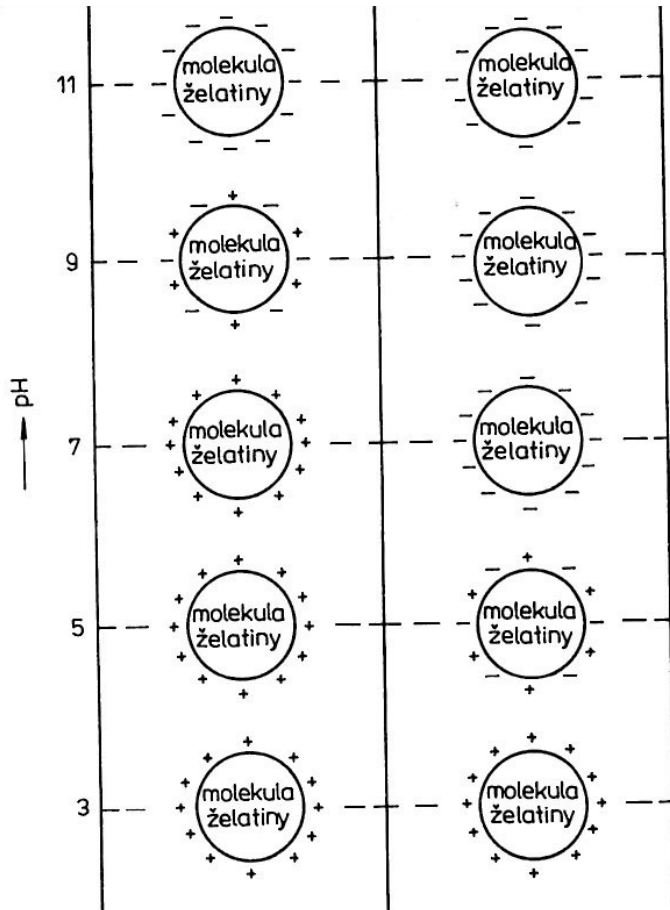
- **Viskozita roztoku > vyšší viskozita > pevnější spoj**
- **Pevnost gelu**

Klith & ŽELATINA a KONZERVÁTOR – RESTAURÁTOR VI

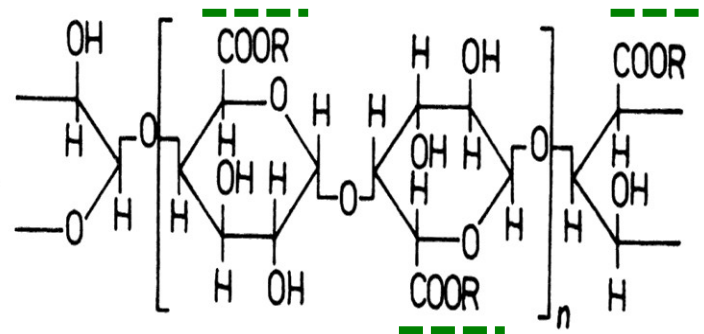
- Lepení dřeva,
 - Knižní vazba,
 - Pojivo barev,
 - Podklady pod malbu
 - Pojení netkaného textilu
-
- Fotografické desky a filmy
 - Odlévací formy
 - Podklady pro zlacení

ŽELATINA - čiření vína a ovocných šťáv

ČIŘENÍ = opatření, jak odstranit látky tvořící ZÁKALY



Obr. 12c Izoelektrický bod želatiny podle způsobu její výroby
 vlevo – želatina vyrobená kyselou cestou
 vpravo – želatina vyrobená alkalickou cestou



Obr. 2 Strukturní vzorec pektinu [50]. R = H nebo CH₃

Hlavní látkou tvořící ZÁKALY jsou PEKTINY

KVALITATIVNĚ NEJNIŽŠÍ MW MÁ

MALÍŘSKÝ KLIH

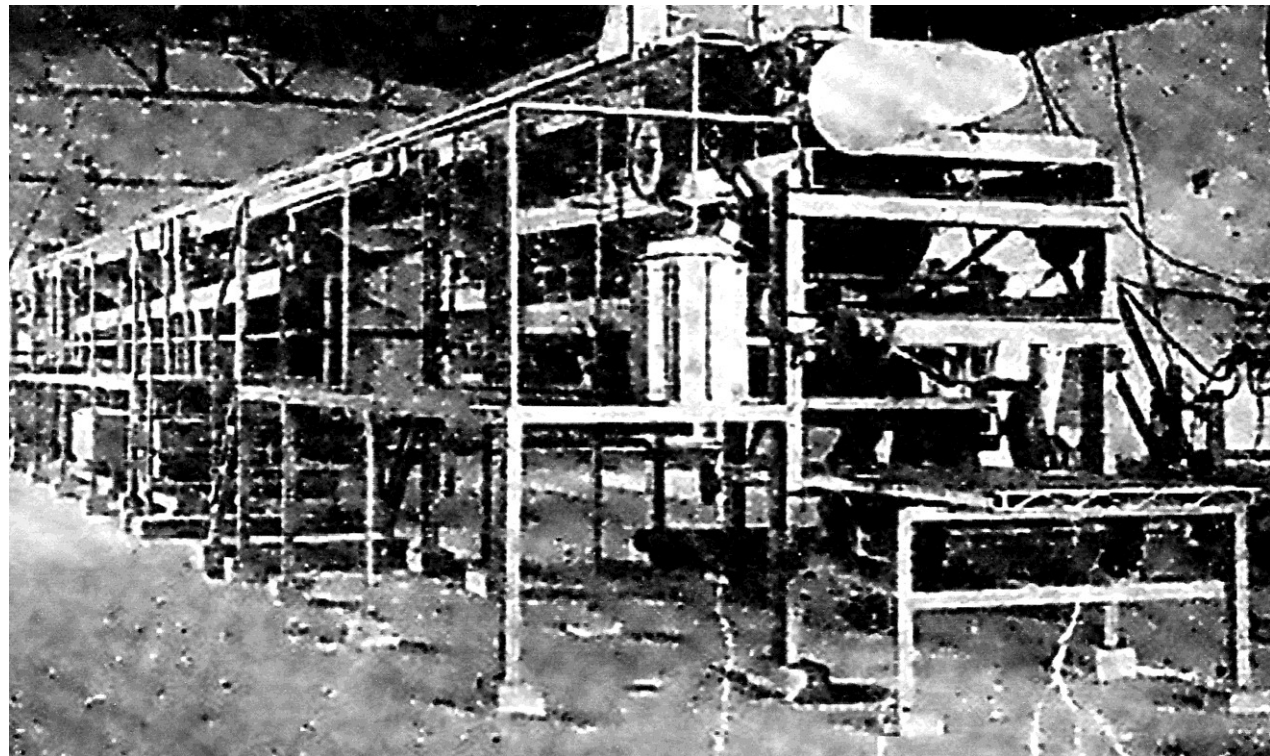
**Na malování v interiéru, kde se
dává kvůli soudržnosti malby**

**Protože má nejnižší MW, tj. je to
nejvíce odbouraný KOLAGEN, je
rozpuštěný zastudena**

J Ing. Max Spitzer

Technologie klišů a želatin

**Kniha je dost
stará, ale ono
se to tak
vyrábí pořád**



7. 12. 2016

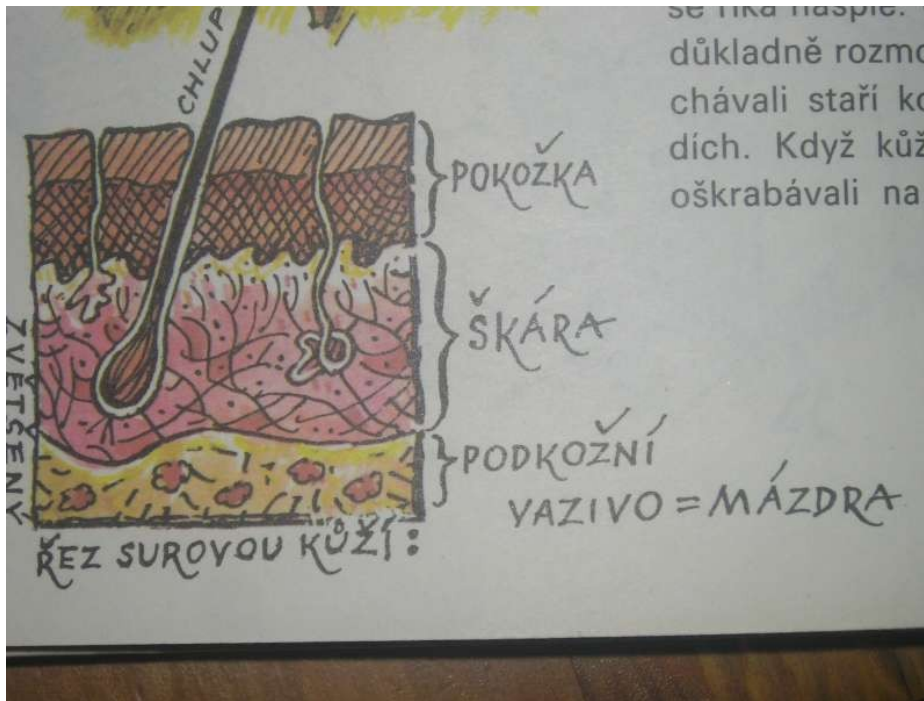
3. Koželužství

3.1 Kůže versus useň

3.2 Postup činění kůží

3. 1 Kůže versus useň

Kůže versus useň



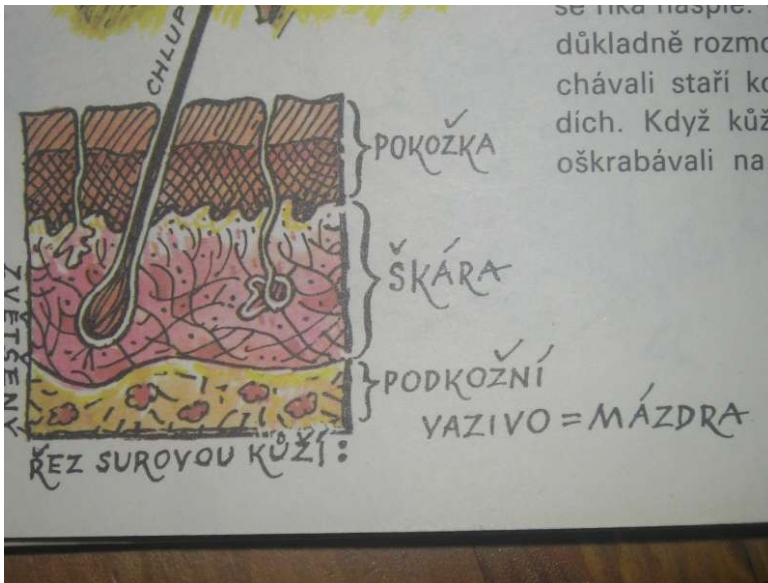
KŮŽE = TO CO SE ZÍSKÁ PO USMRCENÍ ZVÍŘETE

USEŇ = ZPRACOVANÁ KŮŽE

PRO VÝROBU USNĚ JE VÝZNAMNÁ ŠKÁRA.

POKOŽKA I PODKOŽNÍ VAZIVO SE ODSTRAŇUJÍ V PRŮBĚHU ZPRACOVÁNÍ

Složení kůže



- **bílkoviny**
 - **fibrilární (kolagen)**
 - **globulární (např. albumin, odstraňují se před činěním)**
- **tuky**
- **voda**
- **anorganické látky**

ZPRACOVANÍ KŮŽE na USEŇ = ČINĚNÍ KŮŽE

Kůže – SLOŽENÍ ŠKÁRY

- **KOLAGEN**
 - VLÁKNA VYTVÁŘEJÍ TROJROZMĚRNOU STRUKTURU
- **POVRCHOVÁ VRSTVA ŠKÁRY = PAPILÁRNÍ VRSTVA**
- **Spodní vrstva škály = RETIKULÁRNÍ VRSTVA**
- **Poměr tloušťek PAPILÁRNÍ versus RETIKULÁRNÍ vrstvy určuje kvalitu kůže a u různých živočichů se liší**

TEPLOTA SMRŠTĚNÍ Kůže VERSUS USEŇ

Tabulka 23 Teplota smrštění kolagenu a různě činěných usní

Druh činění	Teplota smrštění T_s (°C)
nečiněný kolagen	58 – 68
jirchářství	49 – 63
zámišové činění	50 – 65
formaldehydové činění	63 – 73
třísločinění	70 – 87
zásadité činění hlinité	74 – 81
zásadité činění chromité	77 – 100

TEPLOTA SMRŠTĚNÍ

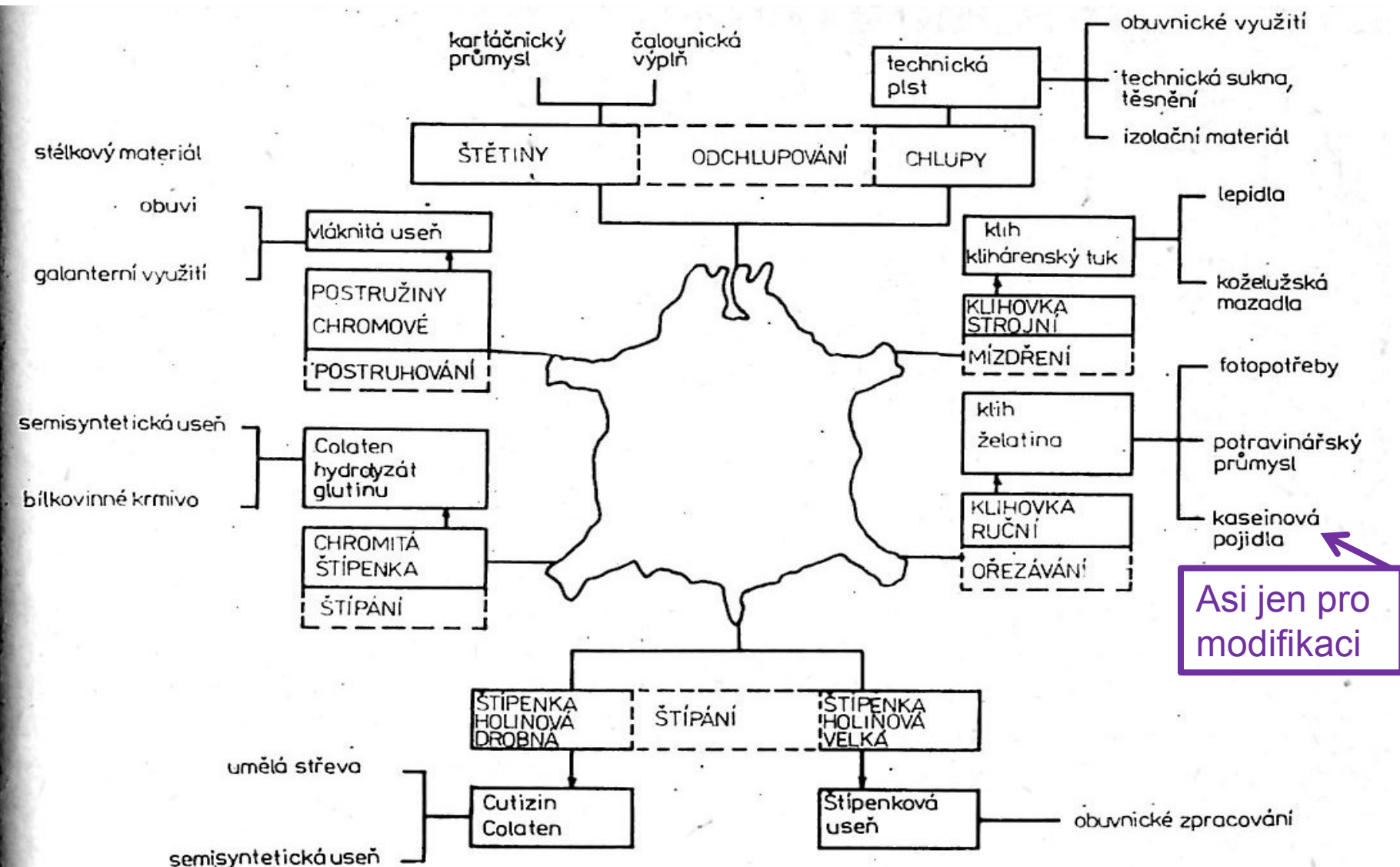
**Uvolnění vodíkových vazeb mezi vlákny kolagenu
vlivem zvýšené teploty a smrštění takto
uvolněných vláken**

Tento proces je NEVRATNÝ

Kůže VERSUS USEŇ

- **USEŇ** je ve vlhkém prostředí odolnější vůči mikroorganismům
- **USEŇ** má vyšší chemickou stabilitu, méně botná ve vodě
- **USEŇ** má lepší a výhodnější mechanické vlastnosti a v suchém stavu je měkká a vláčná
- **USEŇ** má vyšší **TEPLOTU SMRŠTĚNÍ**

3.2 Postup činění kůží



Obr. 66. Schéma zpracování koželužských odpadů po mechanickém opracování kůží, holiny a po postruhování

Poklad pod splavem

Brněnská ulice Koliště byla již od středověku součástí čtvrti nazývané Koželužská. Jak sám název této mimořádné lokality napovídá, nešlo o součást samotného „vnitřního“ města, ale jeho předměstí. Koželuhové totiž pracovali s močí, jejich řemeslo silně zapáchalo, a proto jim byl vykázán prostor co nejdále od ostatních.

Osídlení v těchto místech se kontinuálně vyvíjí již více než sedm stovek let. Výzkum, který

archeologové pro tento rok v listopadu ukončili, doložil neuvěřitelný stavební rozmach od nejstarší dřevohlinité fáze z období středověku až po zástavbu z 19. století, která zde přetrvala až do počátku 21. století. Největším překvapením byly nálezy v nánosích písku pod splavem. Jednalo se o předměty ze železa a drahých kovů, a to včetně mincí, hracích žetonů a šperků. Na další objevy si do jara počkáme.



V Brně máme ulice JIRCHÁŘSKÁ a KOŽELUŽSKÁ

POSTUP zpracování kůže na **USEŇ**

1. Konzervování

2. Máčení

3. **Loužení** v roztoku sulfidu sodného a vápna (dnes) kvůli odstranění srsti a vznikne holina.

4. Odchlupování

5. **Mízdření** - odřeže se vazivo a zbytky svalů

6. **Odvápňování** – viz 3, odstranění Ca solí

7. **Moření** – příprava na **ČINĚNÍ**

8. ČINĚNÍ

9. **Mazání (tukování)**

KOLAGEN – PŘÍČNÉ VAZBY IN VITRO 1

9.5.2 Priechne väzby v kolagéne in vitro

Technicky významné modifikačné reakcie kolagénu majú praktické uplatnenie v technológii kože, vo výrobe kožušín, umelých čriev, semisyntetických usní, ako aj pri zušľachťovaní želatíny. Pri týchto modifikáciách kolagénu ide o nevratné priečnoväzbové interakcie v kolagéne účinkom difunkčných a polyfunkčných vyčisňujúcich látok, v dôsledku čoho nastávajú v kolagéne fyzikálne aj chemické zmeny. Keď je činiaca látka viazaná jednobodovo na jednu funkčnú skupinu alebo intramolekulovo, má funkciu aktívneho plnidla, ale neprejavuje sa na zvýšení hydrotermálnej stability charakterizovanej hodnotou T_s (teplotou zmraštenia).

Činiace látky môžeme rozdeliť do dvoch základných skupín:

KOLAGEN – PŘÍČNÉ VAZBY IN VITRO

JSOU CHEMICKOU PODSTATOU ČINĚNÍ KŮŽE NA USEŇ

a) **anorganické zlúčeniny** — koordinačné zlúčeniny Cr, Al, Zr, Fe, soli kovov vzácnych zemín, izopolykyseliny a heteropolykyseliny Si, P, W, Mo;

b) **organické zlúčeniny** — rastlinné triesloviny, syntány, aldehydy, chinóny, tuky, sulfochloridy, niektoré syntetické polyméry.

Činenie kolagénu ťažkými kovmi, aldehydmi a chinónmi možno porovnávať s priečnymi väzbami vyskytujúcimi sa in vivo. Najpraktickejší význam majú soli chrómu a zirkónia, z organických zlúčenín triesloviny, syntány a aldehydy. Vzhľadom na širokú paletu činiacich látok používaných v priemyselnej praxi budeme si všímať iba soli chrómu a zirkónia, potom triesloviny, aldehydy a chinóny, ktoré sa používajú pri základných spôsoboch činenia.

Činění kůže na USEŇ

Činění kůže je **CHEMICKÁ OPERACE**, kdy reagují funkční skupiny **KOLAGENU** s **ČINÍCÍ LÁTKOU**

ČINÍCÍ LÁTKY

1. **TŘÍSLOVINY (HYDROLYZOVATELNÉ NEBO KONDENZOVANÉ)**
2. **KAMENCE (SÍRANY HLINITO-DRASELNÉ)**
3. **CHROMITÉ SLOUČENINY**

ČINĚNÍ kůže na USEŇ

**Podobnost s VULKANIZACÍ kaučuku na
PRYŽ**

**Činění kůže je CHEMICKÁ OPERACE
(REAKCE), kdy reagují funkční skupiny
KOLAGENU s ČINÍČÍ LÁTKOU a vytvářejí
SÍŤ MEZI MAKROMOLEKULAMI
KOLAGENU**

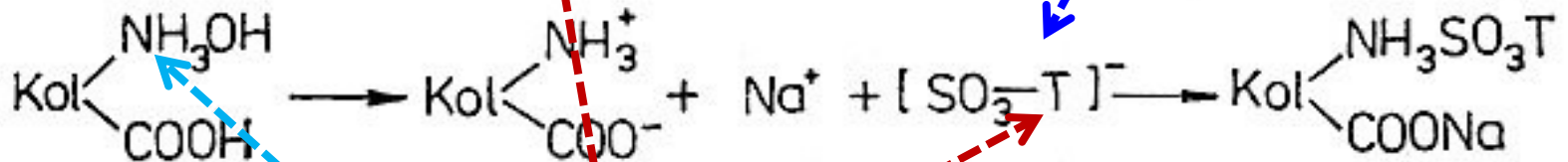
**VULKANIZACE kaučuku na PRYŽ je
CHEMICKÁ OPERACE (VULKANIZACE)
vytvářející SÍŤ MEZI
MAKROMOLEKULAMI POLYIZOPRENU**

TŘÍSLOČINĚNÍ kůže na USEŇ 1

PODSTATOU je interakce $-OH$ nebo SO_3^{-2} skupiny třísloviny s postranními skupinami v řetězci **KOLAGENU** za vytvoření **VODÍKOVÝCH VAZEB**



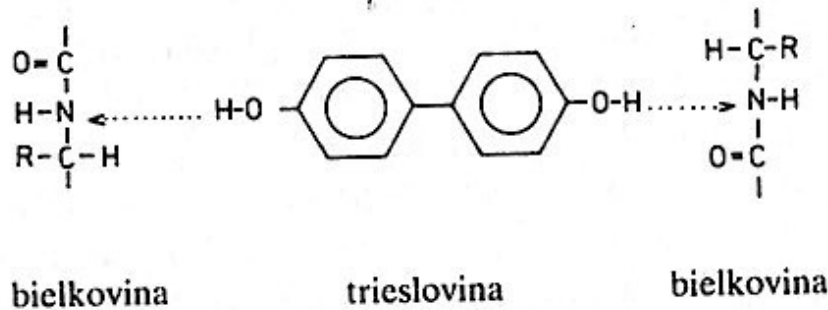
nebo v případě syntetických tříslovin (znázorněno iontově):



Tady patří 2 & + !

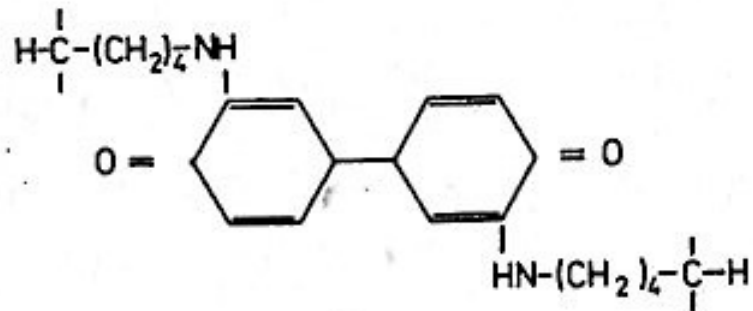
T = TŘÍSLOVINA

TŘÍSLOČINĚNÍ kůže na USEŇ 2

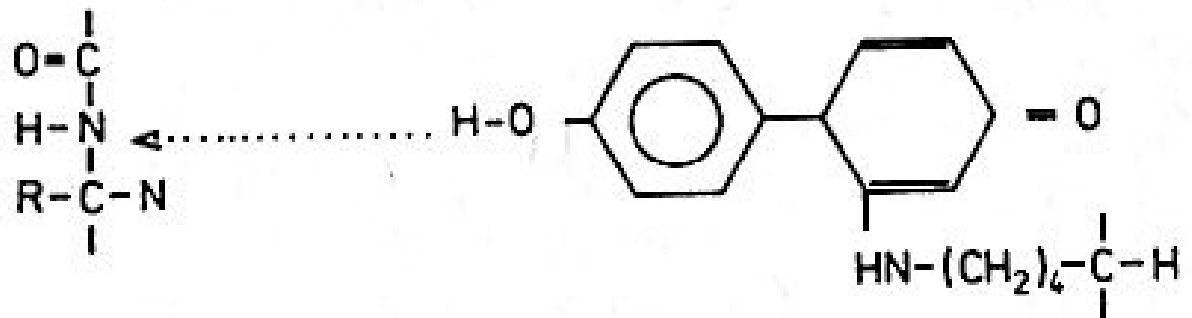


**Vazba VODÍKOVÁ s
IMIDOSKUPINAMI**

**Vazba kovalentní
CHINONU s
AMINOSKUPINAMI**

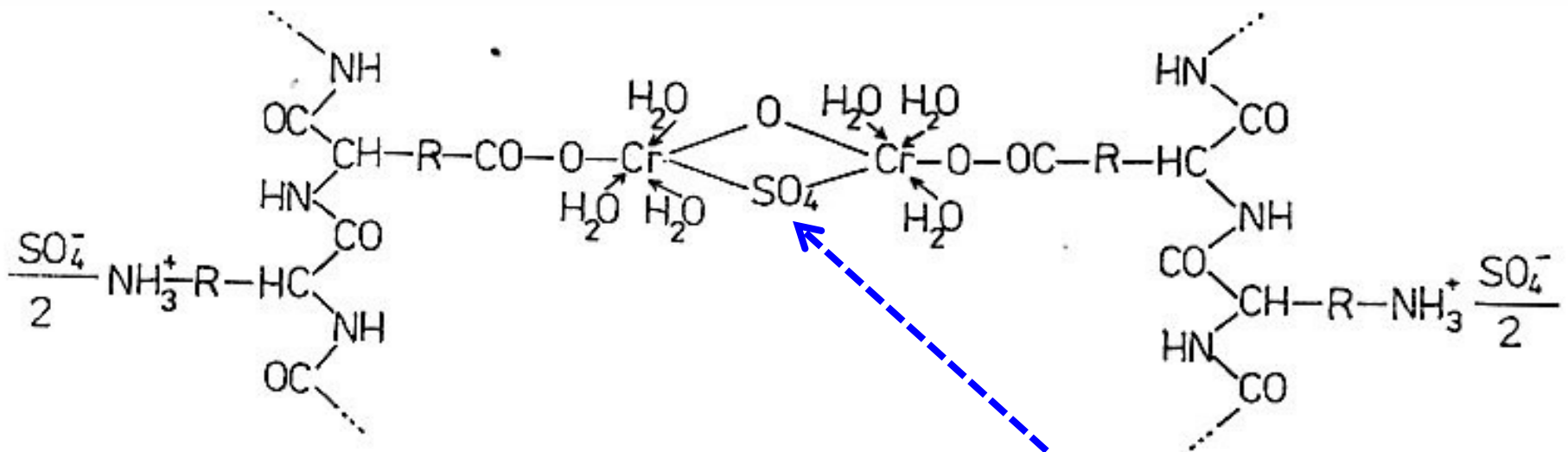


**Vazba kovalentní
CHINONU s
AMINOSKUPINAMI
+ Vazba
VODÍKOVÁ s
IMIDOSKUPINAMI**

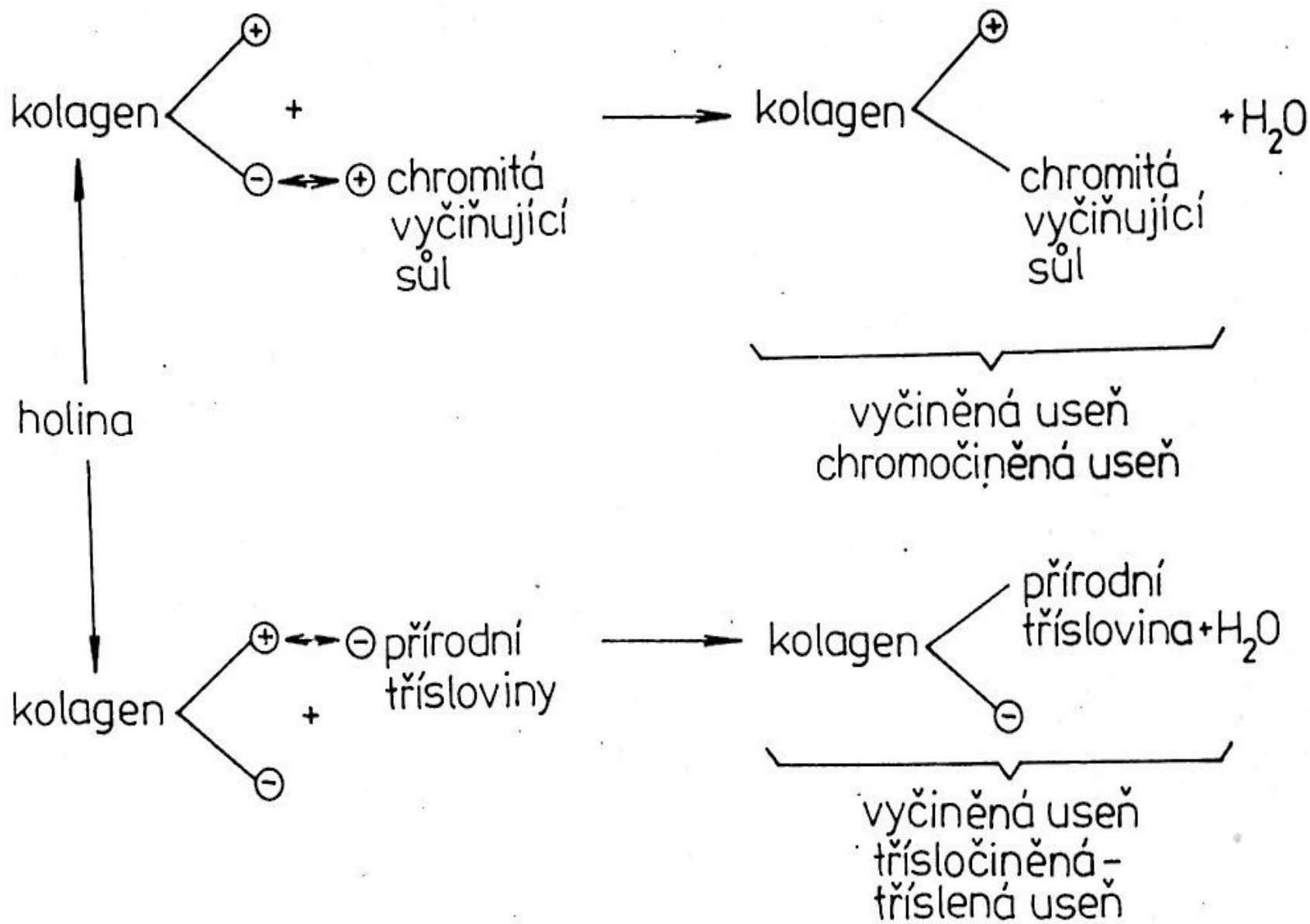


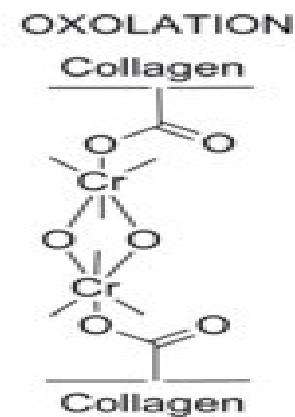
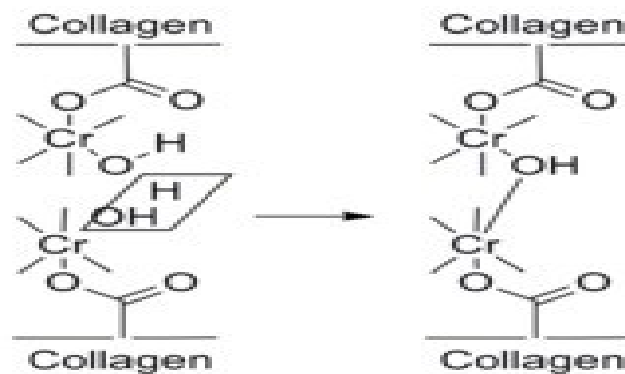
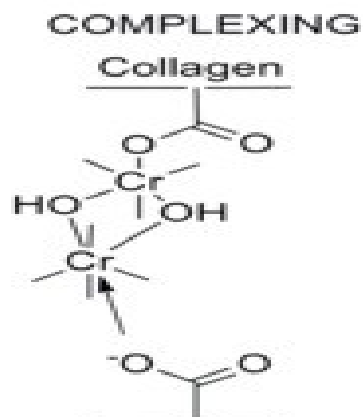
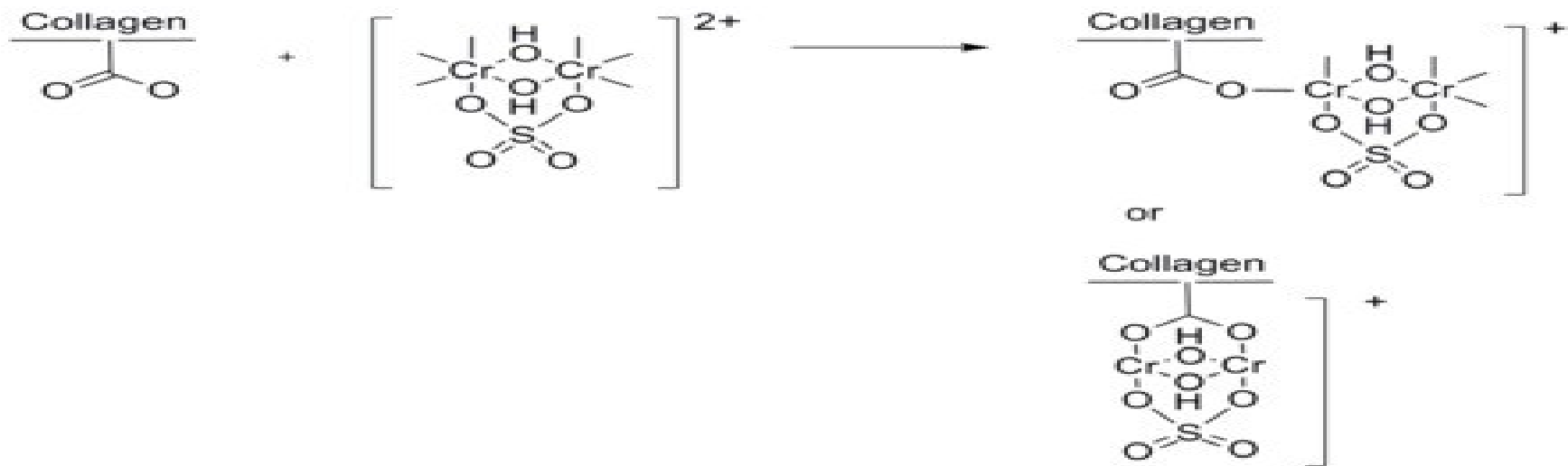
CHROMOČINĚNÍ kůže na USEŇ 1

PODSTATOU je interakce $-\text{COOH}$ KOLAGENU za vytvoření NA KOMPLEXNÍ SLOUČENINU CHRÓMU

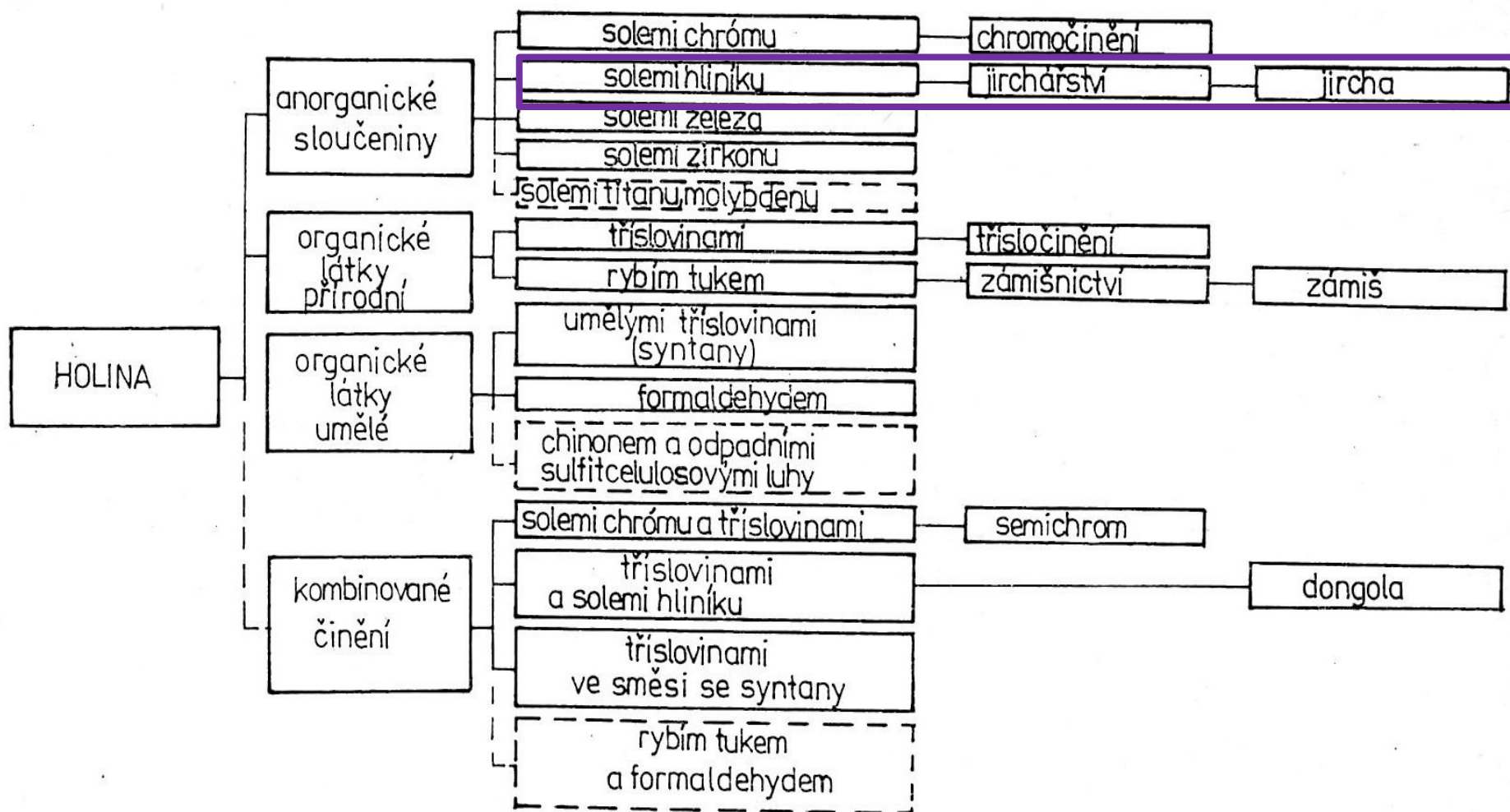


Chromium(III) sulfate ($[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]_2(\text{SO}_4)_3$) has long been regarded as the most efficient and effective tanning agent.





KAMENCOVÉ ČINĚNÍ kůže na USEŇ



Obr. 56. Přehled vyčiňujících látek a způsobů vyčiňování