

超高压处理对羊骨胶原蛋白三级结构的影响

刘彦秋¹, 都日玛¹, 白杨¹, 娜荷芽¹, 乔丹丹¹, 王月宏², 格日勒图¹, 莎日娜^{1*}

(¹内蒙古农业大学食品科学与工程学院 呼和浩特市 010018)

(²卓资县农牧和科技局 内蒙古乌兰察布 012300)

摘要 以羊骨胶原蛋白为研究对象,研究不同超高压压力对胶原蛋白微观形态、热变性温度、吡啶交联物以及空间结构的影响。试验结果表明:超高压处理的胶原蛋白的微观形态在压力 100~300 MPa 时出现短暂的聚合现象;当压力超过 400 MPa 时胶原蛋白结构又重新展开。差式扫描量热仪(DSC)结果显示:经超高压处理的胶原蛋白的变性温度由 44.9 °C(对照组)降为 31.7 °C;胶原蛋白吡啶交联物羟赖氨酸吡啶啉(HP)和赖氨酸吡啶啉(LP)的含量随超高压压力的增加、保压时间的延长而显著下降($P<0.05$);HP 和 LP 与超高压压力和保压时间呈极显著负相关($P<0.01$)。

关键词 超高压处理;胶原蛋白;热变性温度;吡啶交联

文章编号 1009-7848(2022)08-0207-07 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2022.08.023

胶原蛋白是一种呈白色或乳白色、不透明、无支链的水不溶性纤维蛋白^[1]。胶原蛋白的三螺旋结构使其分子结构非常稳定,具有低抗原性、生物降解性、生物相容性和生物活性等特性,广泛应用于食品、医学、美容等方面^[2-3]。

超高压技术是在 100~1 000 MPa 压力下,以水等液体为介质,将物料放在高压容器中作用一定时间,以改变食品活性的一类食品处理手段^[4]。该技术可改变材料的孔径、结构和功能。Javier 等^[5]研究发现, β -乳球蛋白经 200 MPa 超高压处理后更易被胃蛋白酶水解。Ana 等^[6]指出,400 MPa 压力下可加快卵清蛋白被胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶和胃蛋白酶水解的速度。

本研究以羊骨粉为原料,分别以 100,200,300,400,500 MPa 超高压,保压时间 2,5,8,11,14 min 为条件,研究胶原蛋白经超高压处理后,微观形态、热变性温度以及胶原蛋白吡啶交联和空间结构的变化。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

羊骨粉,内蒙古鄂尔多斯市中科万欣富硒清真食品有限责任公司提供;胃蛋白酶、羟脯氨酸含

量试剂盒、十二烷基磺酸钠(SDS)、考马斯亮蓝-R250、甘氨酸,北京索莱宝科技有限公司;冰乙酸、无水乙醇、甲醇,天津市致远化学试剂有限公司;羊赖氨酸吡啶啉(LP)酶联免疫试剂盒、羊羟赖氨酸吡啶啉(HP)酶联免疫试剂盒,江苏晶美生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

超高压设备,包头科发高压科技有限责任公司;SIGMA 离心机,西格玛奥德里奇贸易有限公司;压盖型冷冻干燥机,北京四环科学仪器厂有限公司;紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;生化培养箱,山东博科仪器有限公司;医用冷藏冷冻冰箱,青岛海尔特种电器有限公司;傅里叶红外光谱仪,美国赛默飞世尔公司;差式扫描仪,美国 TA 公司;酶标仪,美国宝特公司。

1.3 方法

1.3.1 胶原蛋白的制备 试验组:羊骨粉→超高压处理→脱脂(无水乙醇)→脱钙(0.5 mol/L 盐酸)→除杂蛋白(0.1 mol/L 氢氧化钠)→酸法酶解(0.5 mol/L 乙酸溶液和不同百分比胃蛋白酶)→盐析(0.9 mol/L 氯化钠)→透析(5 mmol/L 乙酸、蒸馏水)→冷冻干燥;

对照组:羊骨粉不进行超高压处理,制备方法同试验组。

1.3.2 羊骨胶原蛋白结构表征鉴定

1.3.2.1 胶原蛋白 SDS-PAGE 凝胶电泳 取适量冻干的羊骨胶原蛋白,溶于 0.5 mol/L 冰乙酸溶液

收稿日期:2021-08-09

基金项目:国家肉羊产业技术体系项目(CARS38)

作者简介:刘彦秋(1995—),女,硕士生

通信作者:莎日娜 E-mail: shalina66217@126.com

中,使用 2 mol/L NaOH 调节其 pH 值至中性,将样品溶液与 SDS-PAGE 蛋白质缓冲液(5×)以 4:1 的体积比混匀。100 °C 水浴中煮沸样品 5 min,冷却后上样(样品和 Marker 上样量均为 10 μL)。采用 2% 的浓缩胶和 5% 的分离胶^[7],电压调至 120 V,电泳 2~3 h。

1.3.2.2 紫外光谱分析 将冻干后的胶原蛋白样品用 0.5 mol/L 冰乙酸溶解,并配置成 2 mg/mL 的溶液,常温下用紫外-可见分光光度计进行扫描^[8],扫描波长 200~400 nm,以 0.5 mol/L 冰乙酸作为空白。

1.3.2.3 傅里叶红外光谱分析 取胶原蛋白样品与干燥的光谱溴化钾晶体混合均匀并压成薄片,置于样品室内进行扫描分析。扫描波数为 500~4 000 cm⁻¹,次数为 64 次,速度为 0.2 cm/s,分辨率为 4 cm⁻¹^[9]。

1.3.3 扫描电子显微镜(SEM)分析 取胶原蛋白样品置于载物台上,经离子溅喷金处理后,用扫描电镜在 10.0 kV 的电压下放大 200 倍观察其微观结构^[10]。

1.3.4 胶原蛋白热变特性分析 称取约 10 mg 样品,放入铝制坩埚中,压片密封,置于样品室进行测量,以空铝制坩埚作对照。从 25 °C 升温到 100 °C,升温速度 2 °C/min^[11]。

1.3.5 胶原蛋白的吡啶交联分析 参照卢桂松等^[12]的方法。采用双抗体夹心法测定羊骨胶原蛋白吡啶交联的含量。以标准物含量为横轴,吸光值为纵轴绘制标准曲线。通过线性回归得到羟赖氨酸吡啶啉(HP)的标准曲线为 $y = 0.0252x + 0.0299$

($R^2=0.9974$),和赖氨酸吡啶啉(LP)的标准曲线为 $y=0.0233x+0.0319$ ($R^2=0.9981$)。根据标准曲线计算各吸光值对应的样品含量。由此计算羊骨胶原蛋白 HP 和 LP 的含量。

1.3.6 数据处理 本试验使用统计分析软件 SPSS 26.0、Design Expert11; 办公软件 Microsoft Office Excel 2010 与 Microsoft Office Word 2010; 绘图软件 GraphPad prism 5.0,对试验数据结果进行处理分析。

2 结果与分析

2.1 羊骨胶原蛋白的结构表征鉴定

2.1.1 SDS-PAGE 凝胶电泳结果 对试验所提取的羊骨胶原蛋白进行 SDS-PAGE 凝胶电泳分析,结果如图 1 所示。胶原蛋白约在 200 ku 附近出现一条 β 带,在约 120 ku 出现 α₁ 和 α₂ 两条条带,表明羊骨提取的胶原蛋白为 I 型胶原蛋白,并且具有完整的三螺旋结构。

2.1.2 羊骨胶原蛋白紫外光谱分析 对羊骨胶原蛋白进行紫外光谱分析,结果如图 2 所示。羊骨胶原蛋白结构在波长 235 nm 处达到最大吸收。这是由于肽键 C=O 的跃迁所致,符合 I 型胶原蛋白三股螺旋结构的紫外吸收特征;而在波长 280 nm 处没有出现吸收峰,这符合 I 型胶原蛋白的一级结构中缺乏如酪氨酸、苯丙氨酸等具有共轭双键的芳香族氨基酸。

2.1.3 羊骨胶原蛋白红外光谱分析 对羊骨胶原蛋白进行红外光谱分析,结果如图 3 所示。各特征峰及谱带归属见表 1。羊骨胶原蛋白具的特征主

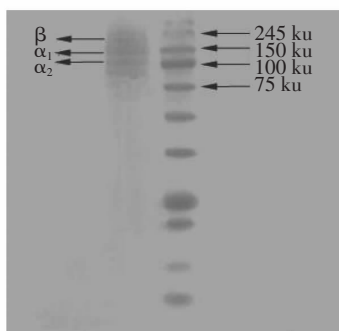


图 1 羊骨胶原蛋白 SDS-PAGE 电泳图

Fig.1 SDS-PAGE electrophoresis of collagen from sheep bone

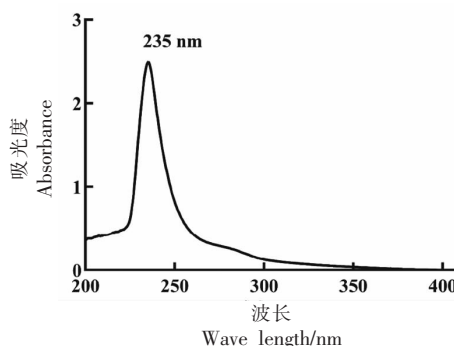


图 2 羊骨胶原蛋白紫外光谱图

Fig.2 Ultraviolet spectrum of sheep bone collagen

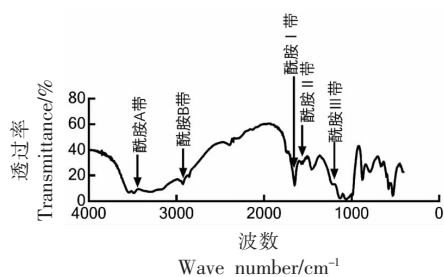


图 3 羊骨胶原蛋白红外光谱图

Fig.3 Infrared spectrum of sheep bone collagen

表 1 FTIR 胶原蛋白特征峰及谱带归属^[13]Table 1 Characteristic peaks and bands assignments of FTIR collagen^[13]

结构	波数/cm ⁻¹	分析
酰胺 A 带	3 299.64	N-H 键伸缩振动
酰胺 B 带	2 924.81	CH ₂ 不对称伸缩
酰胺 I 带	1 650.56	C=O 的拉伸振动
酰胺 II 带	1 550.71	C-N 拉伸振动、N-H 弯曲振动
酰胺 III 带	1 223.88	C-O 伸缩振动 N-H、C-N 无规则缠绕

要包括酰胺 A、酰胺 B、酰胺 I、酰胺 II、酰胺 III 特征吸收峰,分别在 3 299.64, 2 924.81, 1 650.56, 1 550.71, 1 223.88 cm⁻¹ 附近出现峰值,说明所提取的羊骨蛋白主要以胶原蛋白为主,并具有完整的三螺旋结构。

2.2 羊骨胶原蛋白的微观结构分析

采用扫描电镜法 (SEM) 对试验组和对照组的胶原蛋白进行微观结构分析,结果如图 4 所示。由图 4a 可知,对照组的胶原蛋白结构松散。经过超高压处理后,胶原蛋白发生了短暂的聚合(图 4b~4d),这可能是因为蛋白质分子内的非共价相互作用受到超高压的影响,分子间键或分子内键发生重组导致聚合^[14]。Perreault 等^[15]对亚麻籽进行了超高压处理并分析时间对蛋白结构影响,结果表明,超高压压力会使蛋白聚集为大分子聚合物。然而,当超高压压力增大到 400 MPa 后,胶原蛋白分子结构又展开,如图 4e 和 4f 所示,这可能是因为当压力增大到一定程度,胶原蛋白的巯基(SH)和二硫键(S-S)彻底断裂导致的。Pin 等^[16]也发现压力处理能将蛋白质中的二聚体分解成单体。综上,胶原蛋白分子在加压的时候先发生大分子聚合,在超过一定压力以后,又被分解为小的单体。Zhang 等^[17]研究也认为,超高压导致甘氨酸被分解成亚基,产生新的游离巯基残基,其变性机理也可能与二硫键的断裂有关。而甘氨酸作为胶原蛋白中含量最高、分子质量最低的一种氨基酸,在 α 链外仅有一个氢原子,其作用是使 3 条 α 链间结合的更紧密,从而有利于最终超螺旋结构的形成^[18]。综上所述,超高压可能使胶原蛋白中氨基酸 α 链断裂,从而导致胶原蛋白的超螺旋结构被破坏。

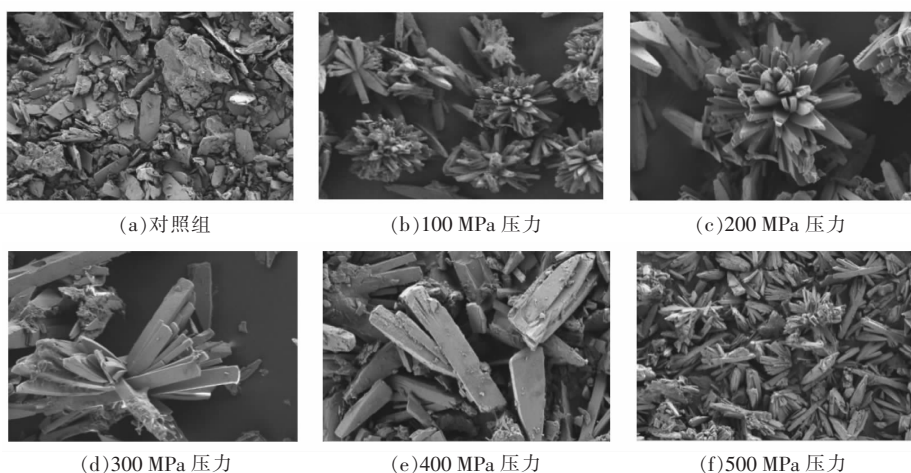


图 4 胶原蛋白的电镜分析图

Fig.4 Electron microscopy of collagen

2.3 羊骨胶原蛋白热变性特性分析结果

采用 DSC 法对试验组和对照组的胶原蛋白

进行热变性分析,结果如图 5 所示。试验组的胶原蛋白经过超高压处理以后,其变性温度由 44.9°C

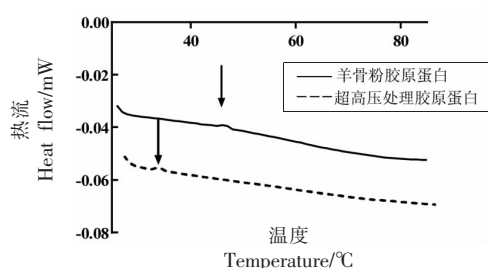


图5 羊骨胶原蛋白 DSC 图

Fig.5 DSC diagram of sheep bone collagen

降低为 31.7 °C,这一结果与瞿怡等^[19]研究的牛皮胶原蛋白热变性温度随超声波功率和超声时间的提高而逐渐降低的结果一致。Balny 等^[20]也认为在较高的压力下,胶原蛋白的变性温度通常降低。这一结果可以说明对照组胶原蛋白比试验组胶原蛋白具有更强的热稳定性,羊骨经过超高压处理以后,使得胶原蛋白的部分氢键发生断裂,三股螺旋结构稳定性的非共价结合力变弱,胶原分子更易解缠绕。

2.4 胶原蛋白吡啶交联的分析结果

由表 2 可知,对照组胶原蛋白 HP 含量为 115.85 nmol/g,LP 含量为 88.71 nmol/g。试验组胶原蛋白 HP 和 LP 含量随着超高压压力的增加呈显著下降的趋势($P<0.05$)。由表 3 可知,超高压压力与 HP 和 LP 含量均呈极显著负相关($P<0.01$),相关系数分别为-0.989,-0.922,HP 含量与 LP 含量呈现正相关,相关系数为 0.931。

由表 4 可知,试验组胶原蛋白经过超高压处理后,吡啶交联的含量随着保压时间的延长,HP 和 LP 含量均呈显著下降的趋势($P<0.05$)。由表 5 可知,保压时间与 HP 和 LP 含量均呈极显著负相关($P<0.01$),相关系数分别为-0.955,-0.900;且保压时间对 HP 的影响高于与 LP 的影响。HP 含量与 LP 含量呈现正相关,相关系数为 0.969。

超高压处理改变了羊骨粉胶原蛋白的构象,同时使得胶原蛋白吡啶诺啉的含量降低;进而导致胶原蛋白吡啶交联程度降低。胶原分子赖氨酸、羟赖氨酸等基团都是带电荷的。在天然的纤维中,大部分基团通过分子内或分子间的相互作用形成离子键,给胶原纤维提供了很大的稳定能。然而,压力可以改变胶原蛋白纤维内的静电性质,减弱了分子内和分子间的静电作用^[21],破坏其中的离

子键,从而影响了胶原蛋白的构象,使吡啶诺啉的含量减少,吡啶交联程度降低。

I 型胶原蛋白的胶原纤维由 2 个非螺旋区域(氨基 N 肽端、羧基 C 末端肽)和一个中央螺旋结构组成。邻近胶原分子的非螺旋与螺旋区域在胶原基质的作用下形成交联分子,而新合成的胶原纤维在邻近胶原分子共价交联的作用下趋向稳定^[22]。由此可知,吡啶交联存在于胶原蛋白三级结构中,而超高压处理对蛋白的影响是主要破坏蛋白三级、四级结构的非共价键^[23],从而导致胶原蛋白吡啶诺啉含量减少,吡啶交联程度降低。

表 2 超高压压力对 HP 和 LP 含量的影响

Table 2 Effects of ultra-high pressure on the content of HP and LP

超高压压力/MPa	HP 含量/nmol·g ⁻¹	LP 含量/nmol·g ⁻¹
对照组	115.85 ± 0.95	88.71 ± 0.95
100	74.41 ± 0.36 ^a	59.50 ± 0.31 ^a
200	59.54 ± 0.37 ^b	36.09 ± 0.43 ^b
300	37.93 ± 0.28 ^c	30.40 ± 0.34 ^c
400	32.14 ± 0.34 ^d	25.71 ± 0.35 ^d
500	14.97 ± 0.29 ^e	20.62 ± 0.32 ^e

注:不同小写字母表示不同处理间存在显著差异($P<0.05$)。

表 3 超高压压力与 HP 和 LP 含量相关性分析

Table 3 Correlation analysis between ultra-high pressure and the content of HP and LP

	超高压压力	LP 含量	HP 含量
超高压压力	1		
LP 含量	-0.922**	1	
HP 含量	-0.989**	0.931**	1

注:**表示在 0.01 水平上显著相关。

表 4 保压时间对 HP 和 LP 含量的影响

Table 4 Effects of pressure holding time on the content of HP and LP

保压时间/min	HP 含量/nmol·g ⁻¹	LP 含量/nmol·g ⁻¹
对照组	115.85 ± 0.95	88.71 ± 0.95
2	83.50 ± 0.46 ^a	63.87 ± 0.32 ^a
5	61.82 ± 0.63 ^b	42.18 ± 0.41 ^b
8	40.36 ± 0.35 ^c	35.76 ± 0.34 ^c
11	37.22 ± 0.27 ^d	32.19 ± 0.34 ^d
14	28.85 ± 0.36 ^e	29.74 ± 0.43 ^e

注:不同小写字母表示不同处理间存在显著差异($P<0.05$)。

表 5 超高压压力与 HP 和 LP 含量相关性分析
Table 5 Correlation analysis between ultra-high pressure and the content of HP and LP

	保压时间	LP 含量	HP 含量
保压时间	1		
LP 含量	-0.900**	1	
HP 含量	-0.955**	0.969**	1

注:**表示在 0.01 水平上显著相关。

3 结论

羊骨胶原蛋白扫描电镜结果表明,经过超高压处理的胶原蛋白在压力为 100~300 MPa 时出现短暂的聚合现象;当压力超过 400 MPa 时,胶原蛋白又展开,说明超高压压力破坏了胶原蛋白的三级结构。

经过超高压处理的胶原蛋白的热变性温度由 44.9 °C 降低为 31.7 °C,说明超高压处理会使胶原蛋白的热变性温度降低,使胶原蛋白的螺旋结构解旋,肽链发生断裂,从而破坏胶原蛋白的三级结构。

超高压处理后,胶原蛋白的吡啶诺啉含量随着超高压压力的增加和保压时间的延长呈显著下降的趋势($P < 0.05$);超高压压力与 HP 和 LP 含量呈极显著负相关($P < 0.01$),相关系数分别为 -0.989, -0.922;保压时间与 HP 和 LP 的含量也呈极显著负相关($P < 0.01$),相关系数分别为 -0.955, -0.900。

综上所述,羊骨胶原蛋白经过超高压处理后,其构象发生变化,三级结构遭到破坏,三股螺旋结构更早发生解旋,肽链变得伸展,暴露了更多酶切位点,并且压力的存在能够有效地促进酶与底物的结合,促进胶原蛋白的进一步水解,从而促进肽的产生。本研究为提取胶原蛋白肽提供了理论依据。

参 考 文 献

[1] LIU D, NIKOO M, BORAN G, et al. Collagen and gelatin[J]. *Annu Rev Food Sci Technol*, 2015, 6(1): 527-557.
[2] 杨向阳, 欧思琳, 朱晋辉, 等. 猪源纤维蛋白贴生物相容性初步研究[J]. *今日药学*, 2020, 30(8):

36-38.

YANG X Y, OU S L, ZHU J H, et al. Preliminary study on biocompatibility of porcine fibrin sealant patch[J]. *Pharmacy Today*, 2020, 30(8): 36-38.

- [3] AHMAD M, NIRMAL N P, DANISH M, et al. Characterisation of composite films fabricated from collagen/chitosan and collagen/soy protein isolate for food packaging applications[J]. *Rsc Advances*, 2016, 6(85): 82191-82204.
[4] BAUER B A, HARTMANN M, SOMMER K, et al. Optical *in situ* analysis of starch granules under high pressure with a high pressure cell[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2004, 5(3): 293-298.
[5] JAVIER F, ALLI I, ROSARIO G. Effects of high pressure and microware on pronaseanda-Chymotrypsin hydrolysis of β -lactoglobulin[J]. *Food Chem*, 2005, 92(4): 713-719.
[6] ANA Q, ROSA C, ISIDRA R. The use of high hydrostatic pressure to promote the proteolysis and release of bioactive peptides from ovalbumin[J]. *Food Chem*, 2007, 104(4): 1734-1739.
[7] 乌日古莫乐. 吉尔利阁蒙古牛骨胶原蛋白的提取及理化特性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2015.
WU R G M L. Study on extraction of collagen from Gi Er Li Ge Mongolia bovine bone and its physical and chemical properties[D]. Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2015.
[8] 陈明辉, 汤海青, 欧昌荣, 等. 鲟鱼皮胶原蛋白的理化特性研究[J]. *现代食品科技*, 2015, 31(12): 191-196.
CHEN M H, TANG H Q, OU C R, et al. Physicochemical properties of collagen from the skin of *Acipenser gueldenstaedtii*[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2015, 31(12): 191-196.
[9] 薛文俊, 曹欣宇, 吴琼, 等. 不同月龄肉羊肌内结缔组织中 V 型胶原蛋白的特性[J]. *肉类研究*, 2019, 33(3): 7-13.
XUE W J, CAO X Y, WU Q, et al. Characteristics of type V collagens in intramuscular connective tissue from sheep of different ages[J]. *Meat Research*, 2019, 33(3): 7-13.
[10] 冯玲玲, 冯进, 李春阳. 海蜇 I 型胶原蛋白的提取及结构特性研究[J]. *食品工业科技*, 2021, 42

- (7): 15–21.
FENG L L, FENG J, LI C Y. Extraction and structural characteristics of type I collagen from *Rhopilema esculenta*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(7): 15–21.
- [11] WU X M, LIU Y W, LIU A J, et al. Improved thermal–stability and mechanical properties of type I collagen by crosslinking with casein, keratin and soy protein isolate using transglutaminase[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 98: 292–301.
- [12] 卢桂松, 王复龙, 朱易, 等. 秦川牛花纹肉剪切力值与胶原蛋白吡啶交联和热溶解性的关系[J]. 中国农业科学, 2013, 46(1): 130–135.
LU G S, WANG F L, ZHU Y, et al. Study on the relationships between pyridinoline cross–links and solubility of collagen and shear force of Qinchuan marbling beef[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2013, 46(1): 130–135.
- [13] 孙圳, 杨方威, 李侠, 等. ATR–FTIR 分析冻结–解冻后的牛肉蛋白二级结构变化[J]. 光谱学与光谱分析, 2016, 36(11): 3542–3546.
SUN Z, YANG F W, LI X, et al. Effects of freezing and thawing treatments on beef protein secondary structure analyzed with ATR–FTIR[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2016, 36(11): 3542–3546.
- [14] MESSENS W, CAMP J V, HUYGHEBAERT A. The use of high pressure to modify the functionality of food V proteins[J]. Trends in Food Science & Technology, 1997, 8(4): 107–112.
- [15] PERREAULT V, HENAUX L, BAZINET L, et al. Pretreatment of flaxseed protein isolate by high hydrostatic pressure: Impacts on protein structure, enzymatic hydrolysis and final hydrolysate antioxidant capacities[J]. Food Chemistry, 2017, 221: 1805–1812.
- [16] PIN S, ROYER C A, GRATTON E, et al. Subunit interactions in hemoglobin probed by fluorescence and high–pressure techniques [J]. Biochemistry, 1990, 29(39): 9194.
- [17] ZHANG H, LI L, TATSUMI E, et al. Influence of high pressure on conformational changes of soybean glycinin [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2003, 4(3): 269–275.
- [18] REGENSTEIN J M, ZHOU P. Collagen and gelatin from marine by–products[J]. Maximising the Value of Marine By–Products, 2007(6): 279–303.
- [19] 瞿怡, 苏寒雨, 刘文涛, 等. 超声波辅助法提取牛皮胶原蛋白[J]. 皮革科学与工程, 2018, 28(2): 5–9.
QU Y, SU H Y, LIU W T, et al. Extraction of collagen from bovine hide assisted by ultrasonic[J]. Leather Science and Engineering, 2018, 28(2): 5–9.
- [20] BALNY C, MASSON P. Effects of high pressure on proteins [J]. Food Reviews International, 2009, 36(6): 88–99.
- [21] 张猛. 极稀溶液中胶原蛋白分子构象稳定性研究[D]. 济南: 山东轻工业学院, 2006.
ZHANG M. Study on the conformational stability of collagen molecules in very dilute solutions[D]. Jinan: Shandong Polytechnic University, 2006.
- [22] 张丽娟, 金晖. 胶原交联与骨质疏松骨脆性[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2010, 3(3): 219–224.
ZHANG L J, JIN H. Collagen cross–links and bone fragility in osteoporosis[J]. Chinese Journal of Osteoporosis and Bone Mineral Research, 2010, 3(3): 219–224.
- [23] 王章存, 徐贤. 超高压处理对大豆蛋白酶解物的影响[J]. 中国酿造, 2009(2): 132–134.
WANG Z C, XU X. Effects of ultrahigh pressure on enzymolysis of soybean protein [J]. China Brewing, 2009(2): 132–134.

Effect of Ultra–high Pressure Treatment on Tertiary Structure of Sheep Bone Collagen

Liu Yanqiu¹, Du Rima¹, Bai Yang¹, Na Heya¹, Qiao Dandan¹, Wang Yuehong², Ge Riletu¹, Sha Rina^{*}

¹College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018

²Zhuozi County Bureau of Agriculture, Animal Husbandry and Science and Technology, Ulanqab 012300, Inner Mongolia)

Abstract Sheep bone collagen was used as the research object to explore the effects of different ultra–high pressure on

the microstructure, thermal denaturation temperature, pyridine cross linkers of collagen and the changes of collagen spatial structure. The results showed that the micromorphology of ultra-high treated collagen polymerizes temporarily at a pressure of 100–300 MPa. When the pressure exceeded 400 MPa, the collagen structure expands again. DSC results showed that the denaturation temperature of collagen after ultra-high pressure treatment decreased from 44.9 °C (control group) to 31.7 °C. The contents of hydroxyl sine pyridine (HP) and lysine pyridine (LP), the cross-linkers of collagen pyridine, were significantly decreased with the increasing of ultra-high pressure pressure and the prolonging of pressure holding time ($P<0.05$). HP and LP were negatively correlated with ultra-high pressure and holding time ($P<0.01$).

Keywords ultra high pressure treatment; collagen; thermal denaturation temperature; pyridine crosslinking