

1. Арсеньева, Т.П. Развитие теоретических основ и разработка технологий низколактозных молочных продуктов с регулируемым жирнокислотным составом: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора технических наук – Санкт-Петербург – 2008г.
2. Варданян, А.Г. Разработка технологии концентратов гидролизованной лактозы на основе пермеата молочной сыворотки: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук:05.18.04 / А. Г. Варданян; СевКавГГУ – Ставрополь, 2009. – 133с.
3. Галстян, А. Г. Краткий справочник специалиста молочно-консервного производства / А. Г. Галстян, И. А. Радаева, С.Н. Турановская, С. А. Корчагина, В.В. Червецов, Е. Е. Иларионова, Н. Н. Свистун, М.Н. Гоцанская – М.: Издательство ООО «Ритм», 2011. - 152 с.
4. Голубева, Л. В. Хранимоспособность молочных консервов/ Л. В. Голубева, Л. В. Чекулаева, К. К. Полянский. – М: ДеЛиПринт, 2001. – 115с.
5. Дымар, О.В. Определение оптимальных параметров процесса ферментативного гидролиза лактозы в молочной сыворотке О.В. Дымар, Л.Н. Емельянова, Г.С. Джумок / Пищевая промышленность: наука и технологии, РУП «Научно практический центр Национальной академии наук Беларуси по продовольствию» // Минск, 2012 – №1(15) – С. 24-30.
6. http://www.dsm.com/markets/foodandbeverages/ru_RU/products/enzymes/dairy/maxilact.html

РАНЕВЫЕ ПОКРЫТИЯ НА ОСНОВЕ 3-D СКАФОЛДОВ ИЗ НАНОВОЛОКОН БИОПОЛИМЕРОВ С ВКЛЮЧЕНИЕМ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Тимченко Л.Д. ¹, Ржепаковский И.В. ¹, Писков С.И. ¹, Арешидзе Д.А. ²,
Капустин М.А. ³, Курченко В.П. ³, Ульшина Д.В. ⁴

¹Северо-Кавказский федеральный университет, г. Ставрополь

²Московский государственный областной университет, г. Москва

³Белорусский государственный университет, г. Минск, kurchenko@tut.by

⁴Ставропольский противочумный институт, г. Ставрополь

Исследован состав и физико-химические свойства гидролизата эмбрионов кур. Показана его высокая эффективность в заживлении ран. Для практического использования полученного гидролизата разработана оригинальная лекарственная форма в виде порошка клатрата циклодекстрина с включенными в него продуктами гидролизата эмбрионов. Этот клатрат использован при создании композиционного раневого покрытия на основе 3D-скафолдов из пуллулана.

Введение. В настоящее время ведутся интенсивные исследования в области создания перевязочных средств с биологически активными свойствами и направленным воздействием на течение раневого процесса.

Раневое покрытие - средство длительного лечебного воздействия на рану с использованием различных материалов и веществ путем их удержания на необходимом участке тела больного. Раневым покрытиям из композитных материалов присущ ряд важных свойств: защитные - предотвращение проникновения инфекции извне в рану; сорбционные - способность поглощать выделяющийся из раны экссудат; лечебные - наличие гемостатического действия, способности стимулировать заживление раны, совместимость с лекарственными веществами; транспортные - воздухопроницаемость, способность препятствовать испарению экссудата через покрытие [7].

В полной мере таким требованиям соответствуют раневые покрытия на основе 3D-скафолдов. Под скафолдами понимают пористые синтетические конструкции на основе биосовместимых и биodeградируемых природных и синтетических полимеров, с включением дополнительных биологически активных компонентов. Они создают идеальные условия для обеспечения клеточной адгезии, пролиферации, дифференцировки и созревания клеток тканей организма и выполняющих функции экстрацеллюлярного матрикса. Скафолды широко применяют при лечении обширных ожогов, хронических ран, поэтому их также рассматривают как биотехнологические раневые покрытия [4].

Для получения 3D скафолдов раневых покрытий используются биodeградируемые полимеры: пуллулан, хитозан, коллаген и др. На их основе получают нановолокна обладающие суперразвитой удельной поверхностью. В результате электроформования наноструктур биполимеров их нановолокна диаметром 100-300 нм формируют 3D скафолд. Для формирования скафолдов могут быть использованы композиционные смеси хитозана, пуллулана, коллагена с включением биологически активных веществ способствующих ранозаживлению. Важной особенностью этих материалов является их высокая гидрофильность, позволяющая сорбировать до 4000% влаги, хорошая адгезия к ране, а также гемостатические свойства [3].

В качестве биологически активных веществ вносимых в такие губчатые структуры могут быть использованы антибиотики, различные факторы роста, а также пептиды полученные гидролизом эмбрионов птиц [7, 5, 6]. Эти вещества способствуют ранозаживлению, но в своем большинстве они являются гидрофобными соединениями, которые плохо растворимы в воде. В связи с этим, возможно их включение в циклодекстрины [2]. Такие клатраты приобретают способность растворяться в воде и пролонгировать действие биологически активных веществ. Полученный комплекс представляет собой порошок, который может быть растворен и добавлен к биополимерам. При электроформовании наноструктур таких смешанных растворов клатраты БАВ включаются в нановолокна биополимеров. Полученный таким образом ранозаживляющий 3-D скафолд будет содержать в нановолокнах

циклодекстрин с включенными в него пептидами или другими биологически активными веществами.

В связи с этим, целью работы являлось исследование ранозаживляющих свойств гидролизата эмбрионов птиц, включение пептидов из них в клатраты циклодекстрина и разработка технологии получения ранозаживляющих 3-D скафолдов из пуллулана с включением в них клатратов БАВ.

Материалы и методы.

Гидролизаты из эмбрионов птиц получали с использованием ранее описанной методики [5]. Состав аминокислот и пептидов исследовался на автоматическом анализаторе аминокислот ARACUS (ABACUS, Германия). Масс-спектры пептидов гидролизата получали в линейном режиме на MALDI-TOF масс-спектрометре Microflex (Bruker Daltonics, Германия). Включение пептидов и аминокислот гидролизатов эмбрионов птиц в клатраты с циклодекстрином осуществляли методом сорастворения и лиофилизации [1, 2].

Для оценки количества включенных аминокислот и пептидов в циклодекстрин использовался гравиметрический метод [2]. Содержание аминного азота в гидролизатах эмбрионов птиц и комплексах включения, определяли методом формальдегидного титрования [8].

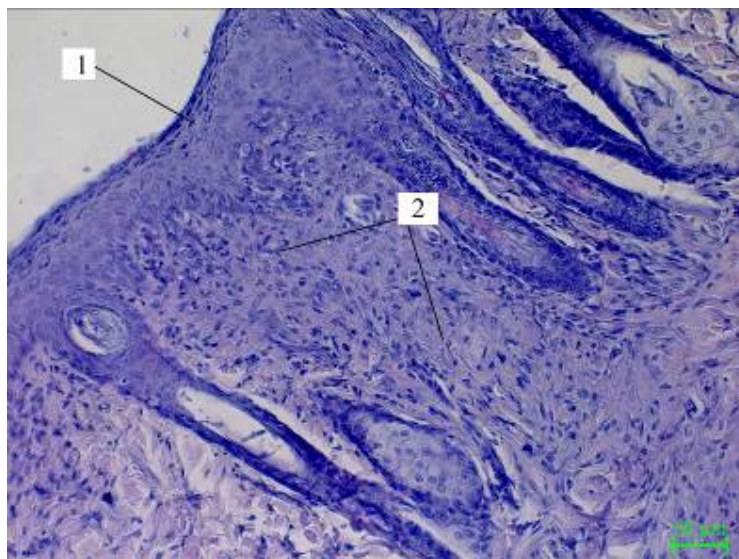
Термогравиметрическим методом анализировались образцы комплексов включения аминокислот и пептидов с β -ЦД, их физической смеси и циклодекстрина. Измерения проводились с помощью термоаналитической системы TA - 4000 «Mettler Toledo» Швейцария. Масса исследуемой навески $\sim 10,5$ мг. Использовалось программирование температуры в диапазоне 25 – 550°C, скорость подъема температуры - 5 °C/мин [2]. Нановолокна из полулана с включением БАВ гидролизатов эмбрионов птиц и их клатратов с циклодекстрином получали методом электроформования на установке Yflow® StartUpElectrospinningMachine (Испания).

Результаты и обсуждения.

Ранее были проведены исследования по ранозаживляющему действию гидролизата эмбрионов птиц. Крысам наносилась линейная рана кожи длиной 1 см и глубиной 2 мм. После чего в нее помещался гель с гидролизатами. После заживления раны проводилось гистологическое исследование образцов кожи [6]. На рисунке 1 представлены результаты формирования рыхлой соединительной ткани и эпителизации. Микроскопия образцов кожи показала, что у животных полностью заживают дефекты после применения лекарственного средства.

Эффективность ранозаживляющего действия гидролизатов эмбрионов птиц определяется его составом и наличием в нем различных пептидов. В связи с этим исследован состав аминокислот и пептидов гидролизата с использованием аминокислотного анализа (таблица) и масс-спектрологии на MALDI-TOF. Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что в полученных гидролизатах содержится большое количество пептидов с

молекулярными массами от 490 до 3390 Да. Среди них доминируют пептиды с молекулярными массами 491, 602, 701, 862, 1515, 1753 Да и др.



1. Полная эпителизация дефекта; 2. Тонкий слой рубцовой ткани, клеточные соединительнотканые элементы в эпидерме.

Рисунок 1 – Общий план: эпидермис и дерма крыс. Окраска гематоксилином и эозином, x200.

Таблица – Состав аминокислот и других продуктов гидролиза в гидролизате эмбрионов птиц, мкг/мл, n=10

| Аминокислоты и другие продукты гидролиза | Смешанный гидролизат эмбрионов птиц | Аминокислоты и другие продукты гидролиза | Смешанный гидролизат эмбрионов птиц |
|--|-------------------------------------|--|-------------------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| Asp ¹ | 739.2±19.4 | P-Ser | 51.4±1.3 |
| *Thr | 97.7±2.44 | Tau | 54.8±1.4 |
| Ser | 168.4±4.7 | Urea | 306.0±7.8 |
| Glu ² | 298.1±7.5 | a-AAA | 10.8±0.3 |
| Gly | 57.4±1.6 | Cit | 6.4±0.2 |
| Ala | 126.5±3.3 | a-ABA | 7.3±0.2 |
| *Val | 123.2±3.2 | Cystha | 52.5±1.4 |
| (Cys) ² | 0 | H-Cystine | 3.1±0.1 |
| *Met | 73.7±1.9 | g-ABA | 234.2±5.9 |
| *Ile | 75.4±1.9 | lMehis | 119.9±2.9 |
| *Leu | 431.5±10.8 | Car | 490.3±12.3 |
| Tyr | 468.1±12.3 | Ans | 24.5±0.6 |
| *Phe | 455.4±11.9 | Hylys | 1.8±0.1 |
| His | 254.1±6.8 | Orn | 21.2±0.6 |
| *Trp | 5.9±0.1 | NH ₄ | 136.3±3.7 |
| *Lys | 398.1±11.1 | EOHNH ₂ | 35.9±0.9 |
| Arg | 471.4±12.1 | Hypro | 1632.5±45.3 |
| Pro | 12.4±0.3 | | |

Для дальнейшего использования гидролизата в качестве ранозаживляющего средства была разработана его новая оригинальная лекарственная форма в виде включенных в циклодекстрин продуктов гидролиза. Для получения комплексов включения в циклодекстрин использовался гидролизат эмбрионов птиц «НИКА 2500», который не содержал высокомолекулярные белки и пептиды. Получали комплекс продуктов гидролиза с циклодекстринами, используя метод сорастворения и лиофилизации. Циклодекстрин растворяли в дистиллированной воде при температуре 80°C на водяной бане до полного растворения. Раствор охлаждали до 60°C и при перемешивании вносили гидролизат белков эмбрионов птиц. При этом наблюдалось постепенное помутнение раствора и образование мелкодисперсных частиц комплексов включения. Полученный раствор охлаждали до 5°C и центрифугировали для отделения клатратов. Полученные клатраты лиофильно высушивались и растирались до гомогенного состояния в ступке [1, 2].

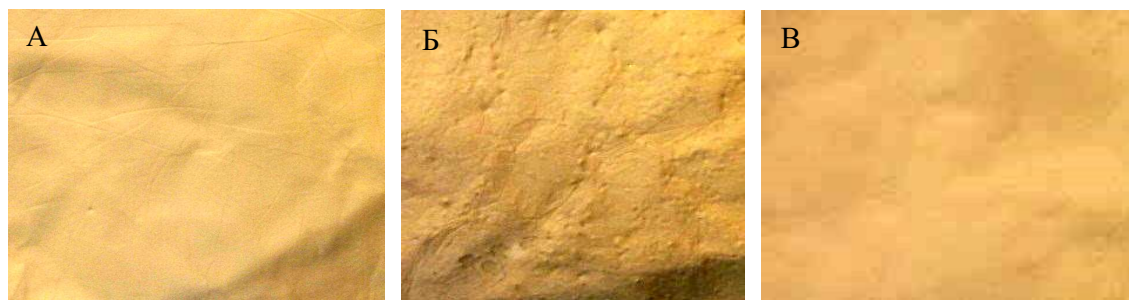
Определение аминного азота БАВ гидролизата связанных с циклодекстрином показало, что в состав клатрата включилось не менее 43,7±4,4% исходной субстанции. Термический анализ комплекса включения гидролизатов белков эмбрионов птиц с β-ЦД свидетельствует об его образовании. Для клатрата характерно два максимума тепловыделения при температурах 100,11 - 160,47°C и 212,13 - 260,35°C. При этом происходит сдвиг максимума термического разложения ЦД с 320°C до 295°C. Эти результаты свидетельствуют об образовании комплексов включения [1, 2].

Полученная лекарственная субстанция содержащая продукты гидролиза эмбрионов птиц может быть использована непосредственно для заживления ран или включена в нановолокна 3D-скафолдов.

Методом электроформования на основе пуллулана изготовили ранозаживляющие 3D-скафолды (рисунок 2 А); композитные 3D-скафолды пуллулана с включением в структуру бета-циклодекстрина (рисунок 2 Б) и пуллулана с включением в структуру формирующихся нановолокон клатратных комплексов циклодекстрина с гидролизатами куриных эмбрионов (рисунок 2 В). В качестве рабочих растворов использовали 20% раствор пуллулана в деионизированной воде, а также раствор 20% пуллулана с добавлением бета циклодекстрина в соотношении 3:1 и раствор 20% пуллулана с добавлением комплекса включения бета циклодекстрина с гидролизатом эмбрионов птиц в соотношении 3:1. Время экспонирования в электрическом поле каждого раствора – 0,5 ч. Нанесение нановолокон проводилось на алюминиевую фольгу толщиной 9 мкм (ТУ У 74.8-21509860-001-2002), закрепленную на коллекторе. На рисунке 2 представлены высококонтрастные фотографии поверхности полученных 3D-скафолдов.

Полученные результаты показывают, что добавление к раствору пуллулана бета циклодекстрина приводит к формированию гетерогенных структур с ярко выраженными включениями крупных кристаллов

циклических олигосахаридов (рисунок 1 Б), в то время как при электроформовании нативного раствора пуллулана образуется однородная структура без видимых гетерогенных образований (рисунок 2 А).



А. 3D-скафолды из пуллулана;

Б. Композитные 3D-скафолды пуллулан:β-циклодекстрин в соотношении 3:1;

В. Композитные 3D-скафолды пуллулан:клатрат β-циклодекстрин-гидролизат куриных эмбрионов в соотношении 3:1.

Рисунок 2 – Фотографии 3D-скафолдов на основе пуллулана, полученных методом электроспиннинга.

При электроформовании раствора пуллулана с добавлением комплексов включения бета-циклодекстрин: гидролизат куриных эмбрионов, наблюдается более однородная поверхность формирующихся 3D-скафолдов, что объясняется включением в структуру нановолокон пуллулана кристаллов комплексов включения, обладающих иной пространственной геометрией и более мелкими размерами, по сравнению с кристаллами бета-циклодекстрина.

Таким образом, был исследован состав и физико-химические свойства гидролизата эмбрионов птиц. Показана его высокая эффективность в заживлении ран. Для практического использования полученного гидролизата разработана оригинальная лекарственная форма в виде порошка клатрата циклодекстрина с включенными в него продуктами гидролизата эмбрионов кур. Этот клатрат использовался при создании композиционного раневого покрытия на основе 3D-скафолдов из пуллулана.

Список литературы

1 Капустин, М.А. Клатратные комплексы бета-циклодекстрина с синтетическими простаноидами / М.А. Капустин, А.С. Чубарова, В.С. Радевич, В.П. Курченко, Ф.С. Пашковский, Ф.А. Лахвич // Биомика. – 2013. – Т. 5, № 1. – С. 1-5.

2 Капустин, М.А. Методы получения нанок комплексов биологически активных веществ с циклическими олигосахаридами, анализ их физико-химических свойств и использование в пищевом производстве / М.А. Капустин, А.С. Чубарова, Т.Н. Головач, В.Г. Цыганков, В.П. Курченко // Труды Белорусского государственного университета. – 2016. – Т. 11, ч. 1. – С. 73-100.

- 3 Макаренко, М.В. Гидрогели взаимопроникающих полимерных сетей для биомедицинского применения / М.В. Макаренко, В.П. Курченко, С.А. Усанов//Белорусские лекарства: сб. материалов Междунар. науч. конф., г. Минск, 17–18 ноября 2016 г.– Минск, 2016.– С. 136–140.
- 4 Макаренко, М.В. Современные подходы к разработке раневых покрытий / М.В. Макаренко, В.П. Курченко, С.А. Усанов // Труды Белорусского государственного университета. – 2016. – Т. 11, ч. 1. – С. 273-279.
- 5 Патент № 2560845 РФ. Способ приготовления низкомолекулярного комплекса активированного эмбрионального (НИКА-ЭМ) / Л.Д. Тимченко, И.В. Ржепаковский, В.Н. Вакулин, Г.Н. Блажнова. - опубл. 20.08.2015.
- 6 Ржепаковский, И.В. Отработка технологии получение пептидсодержащей субстанции на основе эмбриональных тканей птиц / И.В. Ржепаковский, С.С. Аванесян, Л.Д. Тимченко // Современные достижения биотехнологии. Новаии пищевой и перерабатывающей промышленности: Матер. VI Междунар. научно-практ. конф. – Ставрополь: Изд-во СКФУ, 2016. – С. 314-315.
- 7 Скрыбина, К.Г. Хитозан / под.ред. К.Г. Скрыбина, С.Н. Михайлова, В.П. Варламова. – М.: Центр «Биоинженерия» РАН, 2013. – 593 с.
- 8 Тимченко, Л.Д. Новые ветеринарные препараты на основе эмбриональных тканей птиц: монография / Л.Д. Тимченко, И.В. Ржепаковский, Д.А. Арешидзе., С.И. Писков, М.Н. Сизоненко. – Ставрополь, 2016. – 128 с.

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ
РАЗДЕЛЕНИЯ МОЛОЧНОГО СЫРЬЯ ПОЛИСАХАРИДАМИ
В ЗАМКНУТОМ ЦИКЛЕ ПРОИЗВОДСТВА
ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ**

Трухачёв В.И.¹, Молочников В.В.¹, Орлова Т.А.², Храмцов А.Г.³

¹ Ставропольский государственный аграрный университет, г. Ставрополь

² Ставропольский институт кооперации (филиал) БУКЭП, г. Ставрополь

³ Северо-Кавказский федеральный университет, г. Ставрополь

orlovanutrition@yandex.ru

Биотехнология переработки молока с применением полисахаридов предусматривает подготовку раствора пектина – «жидкой биомембраны»; получение концентрата натурального казеина (КНК) и сывороточно-полисахаридной фракции (СПФ), имеющих высокие медико-биологические характеристики; их использование в производстве функциональных молочных продуктов нового поколения по технологии «Био-тон» в замкнутом технологическом цикле.

Создание ресурсосберегающих технологических процессов, обеспечивающих рациональное использование молочного и растительного сырья в составе молочных продуктов, может быть обеспечено на основе разделения молочного сырья полисахаридами. В результате разделения