

Автореф.

УК 42

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО
СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
УКРАИНСКОЙ ССР

Одесский технологический институт
пищевой промышленности
им. М. В. Ломоносова

На правах рукописи

Аспирант А. С. ЖИЛЮК

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НОВЫХ ФИЗИЧЕСКИХ МЕТОДОВ
ОБРАБОТКИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕ-
НИЯ ГАММА-ГЛОБУЛИНА

/Специальность 05.349 - технология специальных
производств/

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук.

г. Одесса - 1972

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО
СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
УКРАИНСКОЙ ССР

Одесский технологический институт

пищевой промышленности

им. М. В. Ломоносова

ОНАХТ 28.07.11
Использование новых



v011994

На правах рукописи

Аспирант А. С. ЖИЛЮК

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НОВЫХ ФИЗИЧЕСКИХ МЕТОДОВ
ОБРАБОТКИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕ-
НИЯ ГАММА-ГЛОБУЛИНА

/Специальность 05.849 - технология специальных
производств/

Переучет 1987

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук.

~~с. в. 11994~~

v011994

Одесский технологический
институт пищевой промыш-
ленности им. М. В. Ломоносова

Б И Б Л И О Т Е К А

г. Одесса - 1972

Работа выполнена на кафедрах мясных и молочных продуктов и технологии консервирования Одесского Технологического института пищевой промышленности им.М.В.Ломоносова и в гамма-глобулиновом цехе Одесского завода бак-препаратов при Одесском научно-исследовательском институте Вирусологии и Эпидемиологии им.И.И.Мечникова. Диссертация изложена на 190 страницах машинописного текста, содержит 27 таблиц, 27 рисунков.Список использованной литературы включает 279 источников, из них 105 - иностранных.

Научный руководитель - кандидат технических наук,
доцент Каган И.С.

Научный консультант - доктор медицинских наук,
профессор Гиммельфарб И.К.

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук О.А.Кириленко

Доктор технических наук Б.Л.Флауменбаум

Оппонирующая организация - Украинский научно-исследовательский институт консервной промышленности.

Автореферат разослан " 23 " V 1972 г.

Защита диссертации состоится " 30 " VI 1972 г.

на заседании Совета Одесского технологического института пищевой промышленности имени М.В.Ломоносова, г.Одесса, ул. Свердлова, 112.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института.

Отзыв на автореферат в двух экземплярах, заверенных печатью учреждения, просим направить в Совет института по адресу: 270039, г.Одесса, ул.Свердлова, 112.

Ученый секретарь Совета

Л.А.Запорожец

Решения XXIУ съезда КПСС и Закон о государственном плане развития народного хозяйства СССР на 1971-1975 годы предусматривают ускорение научно-технического прогресса путем всемерного развития исследований в наиболее перспективных областях науки и сокращение сроков внедрения результатов научных исследований в производство.

В соответствии с этим определены основные задачи и направления научно-исследовательских работ для прогресса во всех отраслях промышленности, в том числе в пищевой и медицинской. Одной из этих задач являются исследования, имеющие своей целью, в первую очередь, предупреждение и лечение инфекционных и вирусных заболеваний.

Широкое распространение в профилактике и лечении этих заболеваний приобрел препарат гамма-глобулин, содержащий большое количество антител различной специфичности, применяемый в практике здравоохранения.

Потребность в гамма-глобулине возрастает в связи с расширением сферы его применения. Производство этого препарата встречает затруднение из-за недостаточности сырья.

Исходным материалом при его изготовлении является сыворотка человеческой крови.

Комитет экспертов Всемирной Организации Здравоохранения /1968/ считает, что такой источник сырья для получения гамма-глобулина, как плацента, во многих странах используется недостаточно. Не употребляется это сырье и у нас, так как существующая методика получения из него гамма-глобулина путем экстрагирования белков

гипертоническим раствором хлористого натрия не нашла практического применения в промышленности, хотя доказана достаточная эффективность препарата гамма-глобулина, полученного из этого вида сырья, в профилактике кори и других заболеваний.

Учитывая дефицитность гамма-глобулина и наличие неиспользуемого для его получения сырья, при изучении влияния новых физических методов обработки пищевых продуктов мы поставили перед собой следующие задачи:

1. Установление влияния низкой температуры на сырье и возможность получения из него концентрированных растворов глобулярных белков.
2. Выяснение эффекта кратковременного воздействия электроплазмолиза на эти ткани с целью увеличения содержания белка в продуктах разрушения клетки.
3. Изучение совместного действия сублимации и последующего замораживания на выход глобулярных белков.
4. Разработка технических параметров замораживания, электроплазмолиза и сублимационной сушки для получения исходного материала при выделении гамма-глобулина.
5. Изучение качества полученного гамма-глобулина, а также исследование чистоты указанного препарата иммунохимическим методом.

Исследования проводились в 1965-1970 г.г.

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, перечня методов исследования, экспериментальной части, выводов и приложений.

В обзоре литературы освещены отечественные и зарубежные исследования в области применения и методов получения гамма-глобулина, физических методов обработки сырья перед консервированием и задачи исследования.

Во второй части перечислены принятые методы исследования, а в третьей, экспериментальной части, состоящей из четырех разделов, изложены результаты собственных исследований, направленных на получение гамма-глобулина с использованием новых методов предварительной обработки сырья - плаценты и изучение качества готового препарата, а также расчет эффективности применения предлагаемых методов.

В выводах суммированы результаты экспериментов и даны предложения по использованию замораживания и электроплазмолиза для повышения выхода гамма-глобулина из исследованного сырья.

На основании выполненных исследований предложен проект соответствующих дополнений к действующей инструкции по получению гамма-глобулина.

Методика исследования была принята следующая: сырье измельчали на волчке /мясорубке/ через отверстия решетки диаметром 1,5 мм, подвергали либо замораживанию, либо электроплазмолизу. Температуру замораживания контролировали потенциометрически с помощью хромелькапельных термопар, напряжение и силу тока при электроплазмолизе - соответствующими контрольно-измерительными приборами. Количество белкового раствора определяли взвешиванием, а концентрацию - рефрактометрически и колориметрически по биуретовой реакции. Получение гамма-глобулина проводили

спиртовым методом вариантом "А".

Контроль качества изготовленного гамма-глобулина осуществляли методом электрофореза в аппарате ЭФА-1, реакцию преципитации проводили по методу Оухтерлони, определение свободных аминокислот - методом распределительной хроматографии на бумаге, рН - потенциометром ЛПУ-01, содержание остаточного спирта в гамма-глобулине, определение стерильности и апиrogenности - по МРТУ-42, № 84, 1965 г., иммунологическую активность - по реакции торможения гемагглютинации. Полученные экспериментальные данные обрабатывались методом вариационной статистики.

ГЛАВА 1

ОБРАБОТКА ИСХОДНОГО СЫРЬЯ ЗАМОРАЖИВАНИЕМ И
ПОЛУЧЕНИЕ ИЗ НЕГО ГАММА-ГЛОБУЛИНА

При разработке методики замораживания сырья мы руководствовались работами Флауменбаума Б.Л. /1952/; Дроздова Н., Янушкина Н. /1954/; Соколова А.А. и др. /1960/ и Павловского П.Е., Пальмина В.В. /1963/.

Сбор сырья проводили согласно действующей инструкции [60] 1959 г.

Собранные плаценты замораживали до температуры минус 10°C в низкотемпературных холодильных прилавках. Для более полного последующего извлечения белков замороженную ткань выдерживали при этой температуре не менее суток и собирали ее в мешки из двойной синтетической ткани ПЦ-2 /полиэтилен-целофан/. Когда мешок заполнялся его сваривали электрическим током. Таким образом обеспечивалась герметичность упаковки и предупреждалось попадание внутрь микрофлоры при транспортировке.

Срок хранения замороженного сырья при вышеуказанной температуре нами был принят до 2-х месяцев.

После замораживания проводили оттаивание обработанной массы при температуре $+20^{\circ}\text{C}$ в течение 30-40 минут. Для этого в ванну с проточной водой погружали сетки, в которых размещали мешки с замороженным материалом. При таком размораживании часть клеточного сока вытекало и накапливалось некоторое количество жидкой фазы; эту жидкость сливали и в дальнейшем объединяли с центрифугатом.

Затем дефростированное сырье измельчали на волчке с отверстиями в решетке диаметром 1,5 мм и на отжимной центрифуге типа ЦРД-1 отделяли раствор белка от ткани. Полученная жидкость была окрашена в красный цвет.

Отжатую массу промывали физиологическим раствором с целью дополнительного извлечения белка /добавляя его в количестве 100 мл на каждый кг исходной ткани/ и снова центрифугировали. Всю жидкость объединяли и получали гамма-глобулин по спиртовому методу вариантом "А".

Для установления длительности процесса, расхода спирта, выхода гамма-глобулина и изучения его качества были проведены сравнительные исследования этих показателей при изготовлении препарата из плацент контрольным методом, согласно действующей инструкции. При этом гамма-глобулин вырабатывали обоими методами из одного и того же исходного сырья.

Всего было изготовлено 86 серий гамма-глобулина, из них 34 контрольным методом, 34 - методом замораживания и по девять - контрольным методом и методом замораживания с двухмесячным хранением замороженного сырья.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.

Замораживание сырья при минус 5°, -7° в течение 24 часов показало преимущество в выходе белка сравнительно со свежим /таблица 1/. Было исследовано 10 партий плацент.

Влияние замораживания на выход белкового раствора из исходного сырья.

Таблица 1

Выход белкового раствора из 1 кг сырья			Содержание общего белка в растворе в %		Выход общего белка из 1 кг сырья		
свежего	замороженного		свежего	замороженного	свежего	замороженного	
в мл	в мл	в % к свежему			в г	в г	в % к свежему
226 [±] 6,8	355 [±] 3,6	157	6,8 [±] 0,13	7,9 [±] 0,1	15,4	28,0	182

Из этих данных видно, что замораживание указанного материала может существенно влиять на выход белка, но для использования этого метода обработки необходимо было подобрать оптимальные условия температурного воздействия.

С этой целью массу ткани замораживали при температуре минус 5°, -10°, -15° и -20°C. Было проведено по 10 опытов для каждого варианта температуры.

Таблица 2.

Влияние различной температуры замораживания на выход белкового раствора из ткани.

Температура замораживания в °C	Выход раствора из 1 кг сырья в мл	Содержание общего белка в растворе в %	Количество белка из 1 кг сырья в г
- 5°	420 [±] 0,8	7,8 [±] 0,06	32,7 [±] 0,23
-10°	410 [±] 1,9	8,25 [±] 0,03	33,8 [±] 0,8
-15°	400 [±] 1,2	8,3 [±] 0,09	33,2 [±] 0,29
-20°	395 [±] 2,0	8,42 [±] 0,08	33,8 [±] 0,15

Рассматривая влияние температуры замораживания плаценты на выход раствора и общего белка из нее можно отметить, что при понижении температуры замораживания имеет место некоторое снижение выхода жидкости/420 - 410 - 400 - 395 мл/ из 1 кг сырья, а количество белка при этом в пределах температуры минус 5° - 10° С несколько увеличивается /с 32,7 до 33,8 г./ . При дальнейшем понижении температуры до минус 15 - 20° С увеличения выхода общего белка не отмечается /33,2 - 33,8 г/. Это дало основание заключить, что замораживание сырья ниже минус 10° С не влияет на дальнейший выход белковой части из нее и способствует достаточно полному выделению белка.

Поэтому в дальнейших наших опытах материал замораживали при температуре минус 10° С в течение 24 часов. Наши данные по замораживанию согласуются с результатами исследований Дроздова Н. и Янушкина Н. /1954г./ для замораживания мяса.

Для выяснения характера изменения температуры при замораживании сырья нами проведены соответствующие опыты, по данным которых построены кривые. При выполнении этих работ ткань замораживали до намеченной температуры /минус 5° , -10° , -15° , -20°C /.

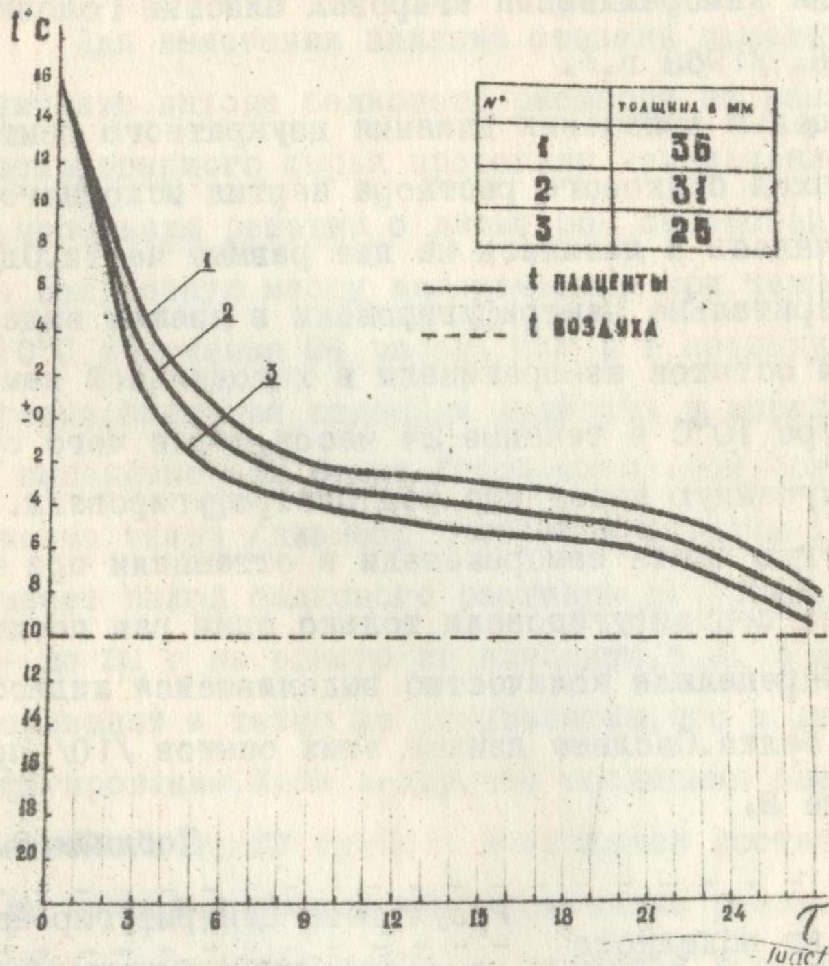


Рис.1 Кривые замораживания сырья при минус 10°C в атмосфере воздуха.

Из сопоставления температурных кривых, полученных при замораживании сырья видно, что процессы теплообмена во всех исследованных случаях замораживания аналогичны. На рис. 1 показаны кривые снижения температуры при замораживании сырья воздухом при температуре минус 10°C . Характер кривых замораживания плаценты близок к кривым, полученным для замораживания агаровых пластин Головкиным Н.А. и Чижовым Г.Б. /1963 г./.

С целью выяснения влияния двукратного центрифугирования на выход белкового раствора партия исходного сырья измельчалась и делилась на две равные части. Одну из них предварительно центрифугировали в свежем виде, затем плотный остаток замораживали в холодильной камере при температуре 10°C в течение 24 часов, после чего оттаивали и полученную массу еще раз центрифугировали.

Другую часть замораживали и оттаивали при тех же условиях, но центрифугировали только один раз после дефростации. Определяли количество выделившейся жидкости и количество белка. Сводные данные этих опытов /10/ приведены в таблице 3.

Таблица 3.

Выход из 1 кг исходного материала	Результаты центрифугирования	
	однократного	двукратного
белкового раствора в мл	$355 \pm 4,0$	$400 \pm 1,5$
белка в г	$28,0 \pm 0,6$	$30,0 \pm 0,32$

Как видно из таблицы 3, при двукратном центрифугировании выход белкового раствора из одного кг материала увеличивается до 400 мл против 355 мл /по сравнению с однократным центрифугированием/, увеличивается также и количество выделяемого белка с 28 г до 30,0 г. Исходя из этих данных, можно заключить, что двукратное центрифугирование является более предпочтительным.

Для выяснения влияния степени измельчения ткани на увеличение выхода белкового раствора из замороженного и дефростированного сырья проводили измельчение его на волчке, используя решетки с диаметром отверстий в 2,5 и 1,5 мм. Полученную массу замораживали при температуре минус 10°C в течение 24 часов. Как и в предыдущих опытах, после размораживания отделяли жидкость и определяли количество выделившегося белка. Установлено, что более тонкое измельчение ткани /диаметр отверстий решетки 1,5 мм/ увеличивает выход белкового раствора на 16 мл, а количество белка - до 30 г из одного кг плаценты, т.е. в конечном счете приводит к таким же результатам, что и двукратное центрифугирование. Имея в виду, что последняя операция усложняет технологический процесс и является достаточно трудоемкой, мы пришли к выводу, что применение решетки волчка с диаметром отверстия в 1,5 мм является в производственных условиях более удобным. Поэтому в дальнейших наших опытах измельчение сырья производилось через решетку с отверстиями диаметром 1,5 мм.

Данные по обработке плацент методом замораживания ^и действующей технологией /по 25 серий/ и получении из них гамма-глобулина представлены в таблице 4.

Таблица 4.

№ пп	Процессы	Метод экстрагирования	Метод замораживания
1.	Количество использованного сырья в кг	208	208
2.	Получено литров раствора	361,7	85,3
3.	Количество жидкости из 1 кг сырья в л	$1,73 \pm 0,012$	$0,41 \pm 0,005$
4.	Количество белка: в экстракте в % из 1 кг сырья в г	$1,48 \pm 0,009$ $25,8 \pm 1,94$	$7,53 \pm 0,035$ $30,9 \pm 0,37$
5.	Выход гамма-глобулина из 1 кг в дозах	$4,56 \pm 0,14$	$6,22 \pm 0,007$
6.	Расход спирта на 1000 доз /в литрах абсолютного алкоголя/	$479,1 \pm 2,7$	$98,7 \pm 0,63$

Из таблицы 4 видно, что при экстрагировании белков контрольным методом из 208 кг сырья получено 361,7 л экстракта с 1,48 % белка; в этом растворе содержание хлористого натрия составляло 2 %. При фракционировании экстракт вдвое разбавлялся дистиллированной водой до изотонического раствора, и обрабатывалось уже не 361,7 л жидкости, а 723,4 л. Таким образом, из одного кг сырья методом экстрагирования получили около 3,5 л жидкости, в которой содержалось 25,8 г белка. При замораживании исходного сырья было получено только 0,41 л белкового раствора, содержащего 30,9 г белка. При получении гамма-глобулина разработанным нами методом в восемь раз уменьшилось количество перерабатываемой жидкости, а выход белка на один кг исходного материала увеличился на 22,1 %.

Предварительная обработка сырья замораживанием увеличила количество полученных доз гамма-глобулина на 36,4 %, без учета его потерь в процессе обработки, а также сократила

расход спирта в 4,7 раза.

Хронометрирование длительности технологического процесса показало, что для получения 1000 доз гамма-глобулина методом экстрагирования гипертоническим раствором требуется 297 часов, а методом замораживания - около 26 часов, или в 11 раз меньше.

В действующей инструкции от 1959 г. при фракционировании сыворотки разрешается хранение полуфабрикатов /осадки "А", "А₁", "Б"/ при температуре минус 6° - 10°С в течение двух месяцев. Полученный таким способом гамма-глобулин по качеству не отличается от гамма-глобулина, выделанного из свежепереработанных сывороток.

Для выяснения влияния двухмесячного хранения замороженного исходного материала при минус 10°С на выход гамма-глобулина из него было поставлено девять серий опытов, сводные результаты которых приведены в таблице 5. Для опыта была использована партия измельченного сырья, тщательно перемешанного и разделенного на четыре части.

Таблица 5.

	П л а ц е н т а			
	Свежая, переработанная методом экстрагирования	Замороженная и дефростированная	Замороженная и переработанная методом экстрагирования после 2-х месячного хранения и дефростации	Замороженная хранилась в течение двух месяцев, после чего была дефростирована
Количество переработанного сырья в кг	77,45	77,45	77,45	77,45
Получено раствора литров	134,6	81,06	136,4	81,8

Количество жидкости из один кг сырья в л	$1,73 \pm 0,021$	$0,4 \pm 0,002$	$1,75 \pm 0,018$	$0,41 \pm 0,0046$
Содержание общего белка в экстракте, %	$1,48 \pm 0,01$	$7,53 \pm 0,16$	$1,86 \pm 0,28$	$8,15 \pm 0,08$
Выход общего белка из од- ного кг сырья, г	$25,8 \pm 1,26$	$30,4 \pm 0,39$	$33,2 \pm 0,32$	$33,7 \pm 0,44$
Выход гамма- глобулина из 1 кг сырья в дозах	$4,56 \pm 0,13$	$6,2 \pm 0,074$	$6,85 \pm 0,078$	$6,4 \pm 0,08$

Приведенные данные свидетельствуют о том, что длительное хранение замороженного сырья не влияет на количество белкового раствора и выход доз гамма-глобулина, если его дефростируют. Что касается контрольного метода, то заморозка и последующая дефростация перерабатываемого материала обеспечивает значительное повышение выхода препарата, но это связано с переработкой почти в 4,3 раза большего количества раствора и с соответствующим увеличением расхода спирта и времени, затраченных на фракционирование.

Таким образом, налицо значительные преимущества предварительной заморозки и дефростации исходного материала перед контрольным методом и совершенно очевидно, что двухмесячное хранение замороженного сырья не влияет на выход гамма-глобулина.

Положительные результаты фракционирования при выделении гамма-глобулина позволили перейти к исследованию качества препарата. При проверке гамма-глобулина ме-

тодом электрофореза и иммунохимическим было выяснено, что замораживание исходного сырья при минус 10°C дает возможность выделить электрофоретически однородный препарат /рис .2/.

Исследование аминокислотного состава гамма-глобулина, полученного из белковых растворов замороженных плацент, показало его тождественность с аминокислотным составом гамма-глобулина выделенного экстрагированием.

Бактериологическим и биологическим контролем было установлено, что гамма-глобулин, полученный из изучаемого сырья методом замораживания и последующим спиртовым фракционированием, стерилен, безвреден и апирогенен. Следовательно, препарат из замороженной ткани по своим свойствам отвечает требованиям, предъявляемым действующей инструкцией.

Результаты проверки иммунологической активности гамма-глобулина, полученного из сырья, обработанного методом замораживания и контрольным методом, по содержанию антител к вирусам гриппа типа A_2 и В, парагриппа и кори не имели между собой существенных отличий.

4011384

Одесская государственная
академия наук
Институт биологии
и химии

Исследование влияния эффекта электроплазмолиза.

Согласно плазматической теории сокоотдачи, всякое внешнее воздействие /тепловое, механическое, замораживание, электроплазмолиз и др./, направленное на повреждение протоплазмы и увеличение ионной проницаемости, приводит к повышенному выходу сока из растительного сырья.

Исходя из этой теории, нами был изучен эффект предварительной обработки изучаемого сырья переменным электрическим током промышленной частоты напряжением 220 вольт.

Процесс электроплазмолиза был исследован осциллографически на испытательном стенде, на котором находились: прибор для электрической обработки, состоящий из двух электродов, расстояние между которыми можно было регулировать в пределах от 1 до 25 мм, лабораторного восьмишлейфного осциллографа МПО-2 и контрольно-измерительных приборов.

Осциллограмма представляет собой автоматическую запись изменения силы тока в зависимости от градиента потенциала, отражающего величину напряжения, приходящегося на единицу расстояния между электродами с размерностью в/см.

Время электроплазмолиза определяли по подсчету количества периодов, поместившихся на горизонтальной оси осциллограммы, от начала пропускания тока до момента достижения максимума по формуле:

v 011994

$$\tau = \frac{N}{50}$$

Где: τ - время электроплазмолиза в секундах,
 N - число периодов от начала процесса до максимума,
 50 - частота переменного тока.

Для получения более точных результатов при подсчете числа периодов на осциллограмму проектировали синусоиду отметчика времени с частотой 500 герц. Тогда $\tau = \frac{N}{500}$

Измельченное сырье помещали между электродами и подключали к сети переменного тока напряжением в 150 - 220 вольт. Когда замыкали цепь электрической обработки, то одновременно включали автоматическую фотосъемку.

На полученных осциллограммах процесс электроплазмолиза свежего /рис.3/ и замороженного материала /рис.4/ фиксировался в виде синусоидальной кривой.

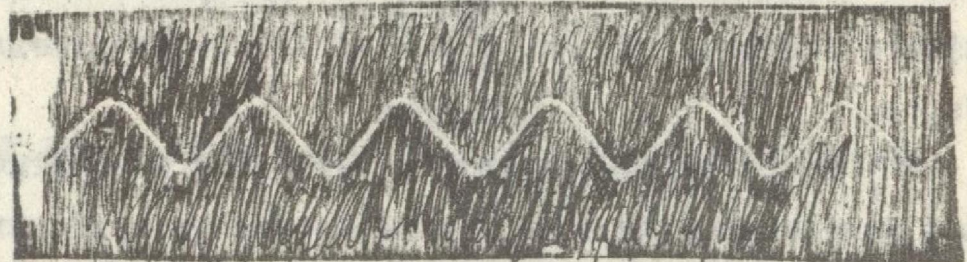


Рис.3. Осциллограмма процесса электроплазмолиза свежего сырья /напряжение 220 в $\delta = 5,0$ мм $\tau = 0,07$ сек/

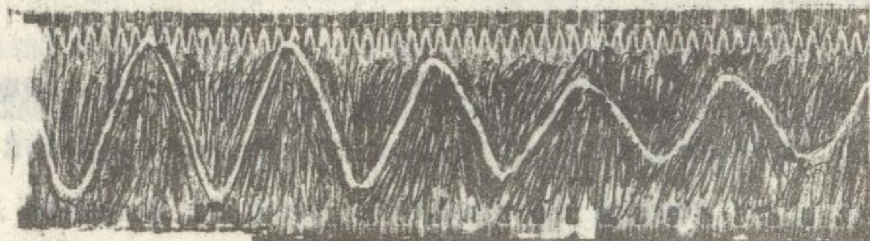


Рис.4. Осциллограмма процесса электроплазмолиза замороженного сырья /напряжение 220 в $\delta = 5,0$ $\tau = 0,04$ сек/

Экспериментально установлено, что оптимальное расстояние между электродами /вальцами/ составляло 5 мм. В этих условиях при пропуске сырья температура его не повышалась.

Для производства гамма-глобулина может поступать как свежий материал, полученный на местах, так и замороженный /доставленный из других районов, областей и республик/.

В таблице 6 представлены показатели электроплазмолиза для свежего и замороженного сырья, полученные на испытательном стенде, при использовании напряжения 150, 200, 220 вольт.

Таблица 6.

Влияние напряжения электрического тока на длительность обработки свежего или замороженного сырья.

Количество опытов	Напряжение тока между электродами /в вольтах/	Градиент потенциала /в/см/	Время обработки в секунд./	
			свежего сырья	замороженного сырья
8	150	300	0,105 [±] 0,0038	0,117 [±] 0,008
10	200	400	0,072 [±] 0,004	0,0517 [±] 0,007
14	220	440	0,068 [±] 0,007	0,039 [±] 0,0068

При увеличении напряжения повышается градиент потенциала, а время электроплазмолиза свежего и замороженного материала соответственно снижается, что является жела-

тельным, как с точки зрения повышения производительности электроплазмолизатора, так и с целью снижения длительности действия электрического тока на белки ткани.

При градиенте потенциала в 440 в/см продолжительность обработки замороженного сырья значительно сокращалась по сравнению с длительностью обработки свежего сырья, что является, очевидно, следствием предварительного разрушения строения ткани при замораживании.

Изучая характер действия электрического тока на исследуемый материал, необходимо было определить количество выделяющегося при этом экстракта, содержание общего белка в нем, количество доз гамма-глобулина, которое можно получить из 1 кг сырья и установить качество этого гамма-глобулина, т.е. выполнить исследования, которые подтвердили бы целесообразность и экономичность разработанной новой технологии предварительной обработки изучаемого вида сырья для получения гамма-глобулина.

С этой целью партию свежего сырья измельчали на волчке с диаметром отверстий в 1,5 мм, тщательно перемешивали и делили на три равных части. Первую обрабатывали контрольным методом. Вторую часть обрабатывали на вальцах экспериментального электроплазмолитизатора конструкции Флауменбаума Б.Д. и Яблочкина Л.М. Третью часть перед процессом электроплазмолитизации подвергали замораживанию при минус 10°C.

Электроплазмолитизатор представлял собой горизонтальные вращающиеся цилиндрические вальцы - электроды, смонтированные на станине и снабженные защитным кожухом - бункером, через который производилась загрузка сырья. Вальцы приводились в движение электромотором. При электроплазмолитизации

сырья использовали переменный ток промышленной частоты 50 герц, напряжение 220 вольт, расстояние между вальцами - электродами - 5,0 мм. Полученная после такой обработки масса, подвергалась разделению на отжимной центрифуге. Жидкую часть, содержащую белок, собирали, отжатую ткань промывали физиологическим раствором, добавляя его по 100 мл на 1 кг веса материала. После перемешивания жидкость отделяли центрифугированием. В объединенном центрифугате определяли выход жидкой части по объему, содержание белка по рефрактометру "РПД", рассчитывали выход общего белка и получали гамма-глобулин спиртовым методом варианта "А".

По каждому способу было проведено по 12 опытов, данные которых представлены в таблице 7.

Таблица 7.

Технологические параметры обработки сырья.

Показатели	Способ обработки		
	Электроплазмолиз		Метод экстрагирования
	Свежего сырья в течение 0,008 сек.	замороженного сырья в течение 0,009 сек.	
Количество экстракта из одного кг материала в л	0,43 \pm 0,008	0,45 \pm 0,007	1,73 \pm 0,01
Содержание общего белка в экстракте в %	7,65 \pm 0,08	7,7 \pm 0,03	1,5 \pm 0,003
Выход общего белка из одного кг материала в г	32,9 \pm 0,6	34,6 \pm 0,44	25,9 \pm 0,05
Выход гамма-глобулина из одного кг материала в дозах	6,2 \pm 0,106	6,8 \pm 0,05	4,5 \pm 0,09

Из данных таблицы 7 видно, что выход гамма-глобулина из одного мг ткани, обработанной электриплазмой, увеличился на 38 % и составляет 6,2 дозы против 4,5 доз полученных контрольным методом. Как из свежего так и из замороженного материала, в результате электрической обработки в четыре раза снижается количество экстракта /с 1,73 л до 0,43 л/ и повышается концентрация общего белка более чем в пять раз; эти факторы значительно уменьшают количество спирта, необходимого для осаждения белка, и сокращают время работы оборудования.

Исследование гамма-глобулина, изготовленного из сырья указанным способом, методом электрофореза на бумаге показало наличие только одной фракции этого белка, а при проверке на животных он оказался апирогенным и безвредным.

Иммунологические свойства гамма-глобулина из ткани, обработанной электрическим током, определяли титрованием антител к вирусам гриппа А₂ и В, а также к вирусу кори по реакции торможения гемагглютинации. Не установлено различие между гамма-глобулином производственных серий, полученным из сыворотки крови, и препаратом, полученным из свежего или замороженного сырья после электроплазмовыва.

В результате проведенных исследований было установлено, что получение гамма-глобулина из плаценты путем использования феномена электроплазмовыва с применением переменного тока промышленной частоты возможно и эффективно.

Действие сублимационной сушки и последующего замораживания изучаемой ткани на выход глобулярных белков.

В проведенном исследовании предполагалось сконцентрировать белок ткани путем удаления влаги сублимационной сушкой.

Как известно, сушка сублимацией проводится при низких температурах порядка минус 40°C и процесс протекает под глубоким вакуумом, что исключает контакт продукта с кислородом воздуха; в этих условиях обработки сырья могут быть сведены к нулю процессы окисления составных частей сырья и деятельность ферментов.

При сублимационной сушке форма и размеры продуктов сохраняются, а сушеные продукты хорошо и быстро восстанавливаются.

Установка для сублимационной сушки состояла из морозильной камеры, в которой создавалась температура минус 40°C; в ней производилось замораживание сырья в течение 3-х часов, после чего его переносили в сушильную камеру /сублиматор/ и удаляли влагу с помощью конденсатора-вымораживателя и вакуум-насоса.

Ранее всего изучена была зависимость между толщиной слоя высушиваемой ткани и количеством удаляемой влаги. С этой целью в противни морозильной камеры загружали измельченную массу слоем разной толщины и определяли затем потерю влаги после семичасовой сушки материала в сублиматоре; остаточное давление в нем поддерживалось на уровне одного мм ртутного столба. При этом было установлено, что по мере увеличения слоя от 3-х до 12-ти см снижалось

количество удаляемой влаги от 30 до 12,5 %. Сублимированный материал центрифугировали и определяли количество белкового раствора и белка в виде раствора из одного кг сырья /таблица 8/.

Таблица 8.

Влияние сублимационной сушки сырья на выход
общего белка.

Количество опытов	Количество влаги, удаленной из сырья в %	Объем полученного раствора белка из одного кг сырья в литрах	Количество белка, полученного из одного кг сырья в г
10	12,5	0,41 ± 0,011	56,1 ± 1,03
10	16,5	0,34 ± 0,012	35,0 ± 0,01
10	20,0	0,33 ± 0,013	35,6 ± 1,0
10	26,0	0,22 ± 0,010	25,0 ± 1,02
10	30,0	0,201 ± 0,013	23,4 ± 1,04

Как это видно из данных таблицы 8, удаление влаги из изучаемого материала при сублимации приводит к значительному обезвоживанию в первую очередь межволоконных пространств и, как следствие, к пониженному льдообразованию. Поэтому кристаллы льда имеют малый диаметр и не разрушают ткани. По этой причине после удаления 12,5 % влаги резко падает количество получаемого белкового раствора и несколько уменьшается количество белка в нем.

Дальнейшее выяснение влияния сублимационной сушки и последующего замораживания на выход белка из ткани пока-

зало, что сушка и последующее замораживание сырья при температуре минус 10°C в течение 24 часов не только не дает увеличения выхода жидкости и общего белка из него, но приводит даже к некоторому снижению этих показателей. Таким образом можно считать, что замораживание сырья после лиофильной сушки не оправдывается.

Сравнивая выход белкового раствора и общего белка из одного кг сырья, обработанного контрольным методом, замораживанием, электроплазмолизом и сублимационной сушкой с последующим замораживанием и без него, можно заключить, что обработка массы сублимацией является процессом, требующим специального оборудованного цеха с соответствующим штатом обслуживания и не имеющим преимуществ перед другими исследованными нами методами обработки.

На основании лабораторных исследований в производственных условиях Одесского завода бактериальных препаратов была выполнена в полупромышленном объеме проверка рекомендации по предварительной обработке исследуемого материала с целью увеличения выхода гамма-глобулина. Полученный препарат был проверен на чистоту фракций, содержание белка и спирта, стерильность, безвредность, пирогенность, титровался к вирусу гриппа типа A_2 и типа В. Проверка показала, что данный препарат отвечает требованиям, предъявляемым действующей инструкцией.

На основании лабораторных изысканий и полупромышленной проверки было разработано дополнение к существующей инструкции.

Выполненный расчет предварительной экономической

эффективности показывает, что только по Одесскому заводу при использовании плацент может быть получено дополнительно 942 тыс. доз гамма-глобулина или выпуск этого препарата может быть увеличен более, чем на 78 %. При переработке этого сырья методом замораживания или электроплазмолиза, снижение себестоимости 1000 доз гамма-глобулина составляет 310,6 руб. или 292,6 тыс. рублей по Одесскому заводу бак-препаратов.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ.

Метод выделения гамма-глобулина из плаценты по действующей инструкции сложен, приводит к получению растворов содержащих 1-2 % белка; выход гамма-глобулина по этому методу не превышает 4, 6 доз из одного кг сырья, а на выработку 1000 доз препарата требуется 479,1 литра абсолютного алкоголя. Из-за перечисленных недостатков этот метод не получил практического применения.

1. Разработаны и исследованы новые физические методы предварительной обработки такого сырья, сводящиеся к разрыву тканей в результате медленного воздействия низких температур или мгновенной обработки их электрическим током промышленной частоты. Такая обработка приводит к увеличению концентрации белка в растворе до 7 % и выше, и значительному ускорению получения белоксодержащих растворов.
2. При медленном замораживании установлено влияние степени измельчения исходного сырья, действие низких температур в пределах минус 5° минус 20°С на белки, влияние толщины слоя замораживаемого материала, кратности центрифугирования. Полученные результаты подтвердили, что обработка плаценты в условиях низких температур происходит аналогично замораживанию мяса теплокровных животных.

3. В результате медленного замораживания исследованного материала при минус 8 - 10°С происходит образование крупных кристаллов льда, вызывающих дополнительное разрушение структуры ткани, и как следствие - выделение клеточного сока, содержащего 7,56 % белка; количество жидкости при этом не превышает 0,41 литра из одного кг сырья.

Изучен и предложен новый метод предварительной обработки свежей или замороженной и хранившейся до двух месяцев плаценты, приводящий к снижению количества жидкости при экстрагировании белков более чем в 4 раза против контрольного метода; содержание белка при этом увеличивается, что в конечном счете повышает выход гамма-глобулина с 4,56 до 6,22 дозы или на 36,4 % больше.

4. Впервые научно обосновано применение электрического переменного тока для электроплазмолиза животной ткани. Установлено, что плацента под влиянием электрического тока ведет себя так же, как и растительное сырье; при этом повреждаются ткани, увеличивается ионная проницаемость, что приводит к получению белковых растворов высокой концентрации.

5. Осциллографированием установлены оптимальные параметры процесса - напряжение тока 220 вольт при градиенте потенциала 440 вольт на сантиметр и длительности процесса 0,04 - 0,07 секунды. Такие условия исключают нагрев обрабатываемого материала и обеспечивают сохранение нативного белка.

6. Выяснено, что применение электроплазмолиза при предварительной обработке свежего или замороженного сырья снижает количество белкового раствора более чем в 3,6 раза против контрольного метода, что соответственно увеличивает концентрацию белка в экстракте более чем в пять раз, а выход гамма-глобулина составляет 6,2 - 6,3 дозы или на 38 % более, чем по существующему методу.

7. Установлено влияние предварительной лиофильной сушки измельченного сырья с последующим его замораживанием на выход белкового раствора и количества белка в нем.

По мере снижения в плаценте влаги с 12,5 % до 30 % выход белкового раствора и белка снижается и становится значительно меньше, чем при использовании других исследованных методов обработки изучаемой ткани. Имея в виду повышенную стоимость сублимационной сушки и пониженный выход белка, такой метод нами не рекомендуется.

8. Методами предварительной обработки плаценты - замораживанием, электроплазмолизом с замораживанием и без него с последующим выделением гамма-глобулина вариантом "А" - получен лечебный препарат достаточно высокой частоты, безвредный и с соответствующим титром антител.

9. Разработано дополнение к инструкции по изготовлению, контролю и выпуску гамма-глобулина для профилактики кори из человеческой сыворотки и экстрактов плацент, и выполнена полупроизводственная проверка предлагаемых дополнений.

10. Разработанные и научно-обоснованные новые схемы предварительной обработки исследованного сырья для получения гамма-глобулина снижают стоимость основных материалов на 31,1 %, по сравнению со схемой получения его из плацентарной сыворотки, и на 54,2 %, по сравнению со схемой экстрагирования по действующей инструкции, а также увеличивают выход этого ценного для лечения ряда болезней препарата и возможность его экспорта за пределы СССР.

11. Технологический процесс переработки сырья замораживанием или электроплазмолизом легко вписывается в существующую на заводах бактериальных препаратов схему обработки сывороток и белковых растворов, из них получаемых, а на существующих мощностях представляется возможным значительно расширить производство дефицитного в настоящее время гамма-глобулина.

Список опубликованных по теме диссертации работ:

1. СМЕРНОВА В.И., ГРОМАДЧЕНКО В.В., ЖИЛОК А.С. Иммуно-химическое изучение противокореевого гамма-глобулина. Журнал "Микробиологии, эпидемиологии и иммунологии". Москва, 1970, № 1.

2. КАГАН И.С., КАЗАНДЖИЙ М.Ю., ЖИЛОК А.С. Получение гамма-глобулина из плаценты, обработанной электрическим током. Журнал "Электронная обработка материалов". Кишинев, 1971, № 4.

3. ЖИЛОК А.С., КАГАН И.С., КАЗАНДЖИЙ М.Ю. Использование метода электроплазмолиза для получения гамма-глобулина из плаценты. Сборник "Вакцины и сыворотки", "Здоровья", Киев, 1971, выпуск № 5.

4. КАГАН И.С., ЖИЛОК А.С. Производство гамма-глобулина из замороженной плаценты. Тезисы докладов Всесоюзной межвузовской конференции по термическим методам обработки при консервировании пищевых продуктов, Одесса, 1969.

Научные конференции, на которых докладывались основные положения диссертации:

1. XXXVII научная конференция ОТИПиХИ в г. Одессе, март 1968.

2. XXXVIII научная конференция ОТИПиХИ в г. Одессе, март 1969.

3. Всесоюзная межвузовская конференция по термическим методам обработки при консервировании пищевых продуктов в г. Одессе, 1-4 октября 1969.

4. Второе всесоюзное совещание по электрической обработке материалов в г. Кишиневе, МССР, октябрь 1969.