

УДК 53.09, 533.1

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОЧИСТКИ КСЕНОГЕННОГО КОСТНОГО МАТРИКСА МЕТОДОМ СВЕРХКРИТИЧЕСКОЙ ЭКСТРАКЦИИ

*Мухаммадиев А. Д., студент, Каримов Т. М., студент,
Шафигуллина И. И., магистрант,
тел. 8(987)236-03-97, artem_football@mail.ru
Научный руководитель – к. т. н., доцент Кузнецова И.В
ФГБОУ ВО «КНИТУ», Казань, Россия*

Ключевые слова: *костный матрикс, диоксид углерода, сверхкритический флюид, экстракция, очистка.*

Данная работа посвящена очистке ксеногенного костного матрикса методом сверхкритической экстракции с использованием диоксида углерода. Экспериментальное исследование проводилось при температуре $T=318$ К и давлении $P=30$ МПа в 2 степени.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18-79-00064).

Введение. На сегодняшний день существуют проблемы при лечении дефектов костных тканей, полученных в результате различных травм или врожденных. Для решения данной проблемы используются различные имплантаты, имеющие схожую структуру и близкие физиологические свойства с костью человека. [1] Костные импланты делятся на: аутогенный, аллогенный, ксеногенный и аллопластинчатый.

В данной работе использовались кости крупного рогатого скота различной степени обработки: нативная костная ткань, не подвергавшаяся какой-либо обработке; декальцинированная и обезжиренная костная ткань; обезжиренная костная ткань, с предварительно проведенной слабой обработкой. В качестве растворителя и соразтворителя использовались диоксид углерода с чистотой 99% (ГОСТ 8050-85) и этиловый спирт чистота 95% (ГОСТ 51723-2001) соответственно.

Описание установки и методики проведения эксперимента. Перед началом эксперимента запускается термостат (3) для охлаждения теплообменника (4) и головок насоса (6). Процесс термостатирования продолжается до тех пор, пока температура охлаждающей жидкости не достигнет -5°C . В экстракционную ячейку (10) загружается экспериментальный образец. При экспериментах, предполагающих использование соразтворителя в экстракционную ячейку (10) добавляется этиловый спирт в количестве 5% от массы подаваемого сверхкритического флюида. Далее открывается вентиль (7) и вентиль баллона (1) откуда диоксид углерода с первоначальным давлением 5-6 МПа попадает в охлаждающий теплообменник (4) через фильтр осушитель (2). После перехода в жидкую фазу CO_2

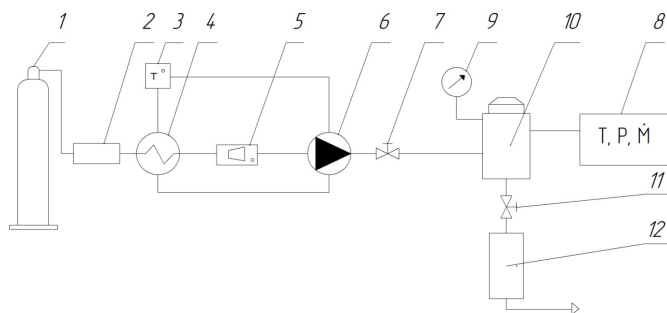


Рисунок 1 - Принципиальная схема экспериментальной установки:
1- баллон с CO₂; 2- фильтр осушитель; 7,11- вентиль; 3- термостат;
4-теплообменник для охлаждения; 5- расходомер; 6- насос высокого давления; 8- блок управления; 9- манометр высокого давления; 10- экстракционная ячейка; 12- сборник экстракта.

через расходомер (5) поступает в насос высокого давления (6), где сжимается до заданного давления, после чего диоксид углерода поступает в ячейку (10). Требуемая температура и давление задаются с помощью блока управления (8).

Первоначально экспериментальный образец обрабатывается статическим методом в течение 30 минут. Затем открывается вентиль (11) для осуществления обработки динамическим методом в течение 60 минут с расходом диоксида углерода 3-4 г/мин. Расход диоксида углерода также регистрируется с помощью блока управления (8). Сброс давления осуществляется при закрытом вентиле (7) и открытом вентиле (8) в течении 45 мин. Полученный по завершению процесса обработки экстракт собирается в сборнике (12). Полученные образцы помещаются в пенициллиновый флакон емкостью 10 мл.

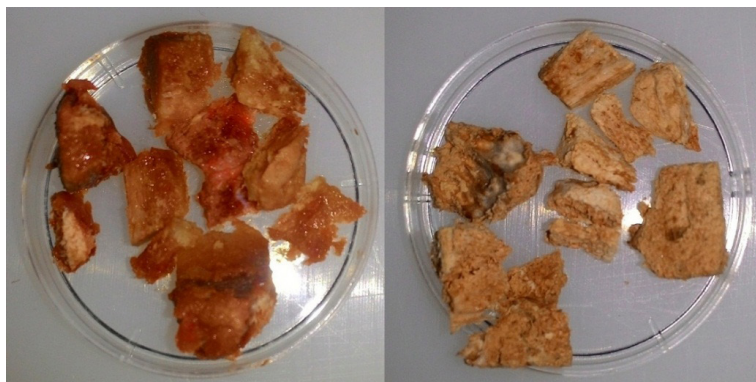
Результаты эксперимента. Данные по исходному образцу нативной костной ткани (Группа 1) отсутствуют, так как образец деградировал вследствие деструкции гнилостной микрофлорой и признан негодным для исследования. Хотя даже в этом случае воздействие сверхкритического диоксида углерода сделало данный образец пригодным для дальнейшего анализа.

Визуально из рисунка 2 наблюдается очистка костной ткани. Все группы образцов после обработки становятся более светлыми и хрупкими. Наиболее сильные визуальные изменения претерпел образец группы 2.

В результате обработки сверхкритической средой образцы группы 1 становятся стерильны на среде Мюллер-Хинтон, при невозможности определить значение исходного образца из-за воздействия гнилостной микрофлоры. Груп-

Таблица 1 - Параметры обработки

№ группы	Предварительная обработка	Т, К	Р, МПа	1 степень с добавлением этилового спирта		2 степень обработка чистым СКФ		t _{сброс.} ' мин
				t _{стат.} ' мин	t _{дин.} ' мин	t _{стат.} ' мин	t _{дин.} ' мин	
1	Нативная костная ткань, не подвергавшаяся какой-либо обработке	318	30	30	60	30	60	45
2	Декальцинированная и обезжиренная костная ткань							
3	Обезжиренная костная ткань							

Рисунок 2- Образец нативной костной ткани до и после обработки СК CO₂

па 2 изначально стерильна и параметры не изменились. В группе 3 стерильность достигла 0 значения.

Содержание ДНК в образцах группы 2 уменьшилось на порядок, а группы 3 практически не изменилось. Изначально образцы второй серии не обладали высоким содержанием ДНК, поэтому проследить явную зависимость не представляется возможным.

Содержание белка группы 2 уменьшилось в два раза, что показывает хорошее воздействие сверхкритических флюидных сред на образцы.

Таблица 2 - Результаты анализов

№ группы	КОЕ/г образца на МПА		КОЕ/г образца на среде Мюллер-Хинтон		Содержание белка мг/г		Содержание ДНК мг/г		W _{Ca} в образце	
	Исх.	Опыт.	Исх.	Опыт.	Исх.	Опыт.	Исх.	Опыт.	Исх.	Опыт.
1	-	133,6	-	0	-	131,5	-	6	-	0,053
2	0	0	0	0	92,6	43,6	1,12	0,124	0	0
3	19,6	0	7,8	0	52,6	44	1,003	0,914	0,025	0,025

Исходя из представленных результатов, можно сделать вывод, что наилучшие показатели имеет костный матрикс группы 2 (декальцинированная костная ткань).

В результате второй серии экспериментов было выявлено, что группа 1 (нативная костная ткань) непригодна для хранения и проведения экспериментов, так как помимо костной ткани имеются иные органические включения.

Вывод. Исходя из полученных результатов, целесообразно использовать двухстадийную обработки: первая ступень с добавлением этилового спирта 30 минут статической выдержки и 60 минут динамической выдержки. Образцы изначально имели достаточно хорошие параметры по содержанию ДНК, кальция, стафилококка. В результате обработки содержания микроорганизмов становится равным 0, содержание ДНК также сократилось. В образцах обнаружилось большое содержание белка, данный тип обработки позволил сократить конечное содержание в два раза. Таким образом, можно рекомендовать данные параметры обработки при высоких содержаниях белка в исходных образцах и при требовании сокращения остаточного растворителя в конечном продукте.

Библиографический список:

1. Залепугин Д. Ю., Зайцев В. В., Тилькунова Н. А., Чернышова И. В., Селезнева И. И., Никонова Ю.А., Власов М. И. Ксеногенный костный матрикс, обработанный сверхкритическим диоксидом углерода, как потенциальный остеопластический материал // Сверхкритические флюиды: теория и практика. – 2014. - Т. 9. - № 3. - С. 4-12.

EXPERIMENTAL RESEARCH OF THE PURIFICATION OF XENOGENIC BONE MATRIX BY THE METHOD OF SUPERCRITICAL EXTRACTION

Mukhammadiev A. D., Karimov T. M., Shafigullina I. I.

Keywords: *bone matrix, carbon dioxide, supercritical fluid, extraction, purification.*

This work investigates the purification of xenogenic bone matrix by supercritical extraction using carbon dioxide. An experimental study was carried out at a temperature $T = 318\text{ }^{\circ}\text{C}$ and a pressure $P = 30\text{ MPa}$ in 2 steps.