

Фазовые переходы в автоклавированных экстрактах плаценты и суспензиях клеток при температурах ниже 0°C

Е.Н. БОБРОВА, А.В. ЗИНЧЕНКО, М.И. ШЕТИНСКИЙ

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Phase Transitions in Autoclaved Placental Extracts and Cell Suspensions at Temperatures below 0°C

E.N. BOBROVA, A.V. ZINCHENKO, M.I. SCHETINSKY

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

В настоящее время экстракты плаценты используют для получения препаратов, характеризующихся высокой биологической активностью. Они находят применение в биологии и медицине. Автоклавирование – один из перспективных методов, позволяющих при определенных условиях частично сохранить биологическую активность экстрактов плаценты, снизить риск контаминации и увеличить срок хранения препаратов. Изменение биологической активности экстрактов после автоклавирования по отношению к клеткам может быть обусловлено особенностями межмолекулярных взаимодействий компонентов системы.

В данной работе исследованы фазовые переходы в водно-солевых экстрактах плаценты человека и клеточных суспензиях в присутствии экстрактов в температурном диапазоне –100...0°C и определено количество связанной воды в образцах.

Автоклавирование водно-солевых экстрактов плаценты человека проводили при температуре 120...122°C, давлении 1,8–2,0 атмосфер в течение 10–20 мин. Клетки *Candida albicans*, перевиваемой культуры эпителия почки свиньи (СПЭВ) и отмытые физиологическим раствором эритроциты осаждали центрифугированием в течение 5 мин при 800 g и смешивали с экстрактом плаценты в соотношении 1:1. Низкотемпературные фазовые переходы исследовали на дифференциальном сканирующем калориметре (ДСК). Образцы охлаждали погружением в жидкий азот, средняя скорость охлаждения составляла 3,3(3) град/с. Термограммы регистрировали при нагреве со скоростью $8,3(3) \times 10^{-3}$ град/с. Для определения количества связанной воды использовали спектрометр ЯМР высокого разрешения «TESLA BS 567 А».

Исследования показали, что автоклавирование экстракта приводит к инверсии в экстракте плаценты человека при –73°C. Смешение экстракта с клеточными суспензиями повышает температуру инверсии на 3–7 градуса, что обусловлено связыванием молекул, участвующих в процессе инверсии, с клеточными мембранами и затруднением развития процесса инверсии. Кристаллизация льда при нагреве после автоклавирования экстракта отсутствует, что свидетельствует о полной кристаллизации льда при охлаждении. При этом количество связанной воды составляло 0,1–0,3% относительно всей воды в системе. Показано, что автоклавирование способствует процессу кристаллизации эвтектических составов при охлаждении, что подтверждается увеличением пика плавления эвтектических составов, наблюдаемом на этапе нагрева.

Таким образом, автоклавирование экстракта приводит к трансформации межмолекулярных взаимодействий в нем, в следствие чего изменяются протекающие фазовые переходы при температурном влиянии.

Nowadays, placental extracts are used to produce the preparations characterized by a high biological activity. They are used in biology and medicine. Autoclaving is one of the perspective methods allowing, under certain conditions, partial preservation of biological activity of placental extracts, reduction of the risk of contamination and increase of storage term of preparations. Change of biological activity of extracts after autoclaving as for cells may be stipulated by peculiarities of molecule-molecule interactions of system components.

In this research the phase transitions in aqueous-saline extracts of human placenta and cell suspensions with extracts within the temperature range –100...0°C were studied and amount of bound water in the samples was examined.

Autoclaving aqueous-saline extracts of human placenta was performed at 120–122°C, 1.8–2.0 atm pressure for 10–20 min. Cells of *Candida albicans*, the cells of pig kidney epithelium passaged culture (SPEV), and erythrocytes washed with physiological solution were sedimented by centrifugation for 5 min at 800 g and mixed with placental extract in 1:1 ratio. Low-temperature phase transitions were investigated with differential scanning calorimeter (DSC). The samples were cooled by plunging into liquid nitrogen, average cooling rate was 3.3(3) deg/s. Thermograms were recorded when heating at the rate of $8.3(3) \times 10^{-3}$ deg/s. There was used high-resolution NMR spectrometer TESLA BS 567 A to examine the amount of bound water.

The studies have shown that the extract autoclaving results in inversion in human placental extract at –73°C. The mixing of extract with cell suspensions rises temperature of inversion by 3–7°C, that is stipulated by binding of the molecules, involved into inversion, with cell membranes and making difficult this process. Ice crystallization at heating after autoclaving the extract is absent, indicating a complete ice crystallization during cooling. Herewith the amount of bound water was 0.1–0.3% relative to all the water in a system. It is shown that autoclaving contributes to crystallization of eu-tectic compositions during cooling, confirmed by increase of eutectic compositions in melting peak, observed during heating.

Thus, extract autoclaving leads in transformation of intermolecular interactions in it, resulting in a change of proceeding phase transitions at temperature effect.