

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СТАДИЙ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОГО  
КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ И ДИАФИЛЬТРАЦИИ МЕТОДА ТАНГЕНЦИАЛЬНОЙ  
УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИИ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ АЛЬБУМИНА**

**А.М. Бриштен, И.В. Василевич**, 5 курс

Научный руководитель – **Н.В. Водчиц**, зав. отраслевой лабораторией ”ДНК и клеточных технологий в растениеводстве и животноводстве“

**Полесский государственный университет**

Научный руководитель – **Е.В. Бачмага**, зав. ОППИС филиала ГУ ”РНЦ ТимБ“

**Введение.** В последние годы ультрафильтрация является эффективным способом разделения и концентрирования фракций крови в ходе приготовления препарата альбумина [2].

Для фракционирования донорской плазмы применяются осаждающие агенты (этанол, риванол, полиэтиленгликоль, сульфат аммония и т.д.) или хроматографические методы, при использовании которых возникают проблемы с удалением осаждающих агентов или хроматографических элементов, а также с концентрированием конечного белкового раствора [2]. Ультрафильтрация является удобным методом по сравнению с другими методиками, привлекает своей простотой, высокой производительностью и экономичностью, стабильностью и бережной обработкой, а также позволяет получить продукт улучшенного качества при снижении себестоимости [1, с. 74].

На стадии предварительного концентрирования достигается очистка на начальном этапе, а также снижение объема раствора альбумина, что уменьшает объем воды и затрачиваемое время на стадию диафильтрации. Тем временем стадия диафильтрации требует поддержания объема раствора альбумина на постоянном уровне добавлением освобожденной от пирогенов воды [2].

При тангенциальной ультрафильтрации направления подачи среды и фильтрации перпендикулярны. В результате часть фильтруемой среды проходит через мембраны как фильтрат, а основная часть потока выходит из системы в рабочую емкость, затем вновь поступает в фильтрующий кон-

тур. При таком режиме имеет место самоочищение фильтрационного модуля, что значительно увеличивает продолжительность его эксплуатации [3, с. 79].

Цель данной работы – дать оценку эффективности стадий предварительного концентрирования и диафильтрации метода тангенциальной ультрафильтрации при производстве альбумина

**Методика и объекты исследования.** Исследования были проведены на базе филиала ГУ "Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий".

Исходным сырьем для стадии предварительного концентрирования являлся раствор альбумина (промежуточный продукт), полученный из плазмы доноров Брестской области, с рН 7,2–7,5 и температурой (5±1) °С.

Исходным сырьем для стадии диафильтрации являлся раствор альбумина (промежуточный продукт) с показателем преломления 1,36–1,3620, рН 7,2–7,5 и температурой (5±1) °С.

Процесс ультрафильтрации проводили на ультрафильтрационной кассетной система PELLICON®, Millipore.

Исследования проводились с периодичностью один раз в неделю в соответствии с календарным планом производства. Избыточное давление регулировалось с помощью вентиля и контролировалось манометрами. Значение показателя температуры фиксировалось логгером. Данные показатели должны находиться в необходимом диапазоне значений для предотвращения денатурации альбумина. Контроль концентрации раствора осуществлялся при исследовании показания преломления раствора на рефрактометре. Значение скорости мешалки устанавливалось не более 60 об/мин для предотвращения вспенивания. Проба на содержание белка в пермеате (проба с 20% ТХУ – трихлоруксусная кислота) проводилась в мерной емкости (допустима слабая опалесценция, а образование осадка указывает на нарушение целостности мембраны).

**Результаты и их обсуждение.** Было проведено трехкратное предварительное концентрирование и диафильтрация трех серий раствора альбумина с повторностью раз в неделю.

Показатели ультрафильтрационной системы и раствора альбумина на стадии предварительного концентрирования представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Показатели ультрафильтрационной системы и раствора альбумина на стадии предварительного концентрирования

Показатель	Критерии приемлемости	Номер загрузки		
		1023	1123	1223
Дата проведения		06.03.23	13.03.23	20.03.23
Проверка рефрактометра	Проводится раз в год	18.05.22	18.05.22	18.05.22
Калибровка рефрактометра	Проводится в соответствии с ТНПА	Проведена	Проведена	Проведена
Температура р-ра, °С	5±1	5,8	5,9	5,3
Объем раствора альбумина, л.		61,15	60,28	71,2
Скорость вращения мешалки, об/мин	Не более 60	60	60	60
Избыточное давление на входе, МПа	0,1–0,2	0,12	0,15	0,12
Избыточное давление на выходе, Мпа	0,07–0,17	0,09	0,12	0,09
Проба с 20% ТХУ	отрицательная	отрицат.	отрицат.	отрицат.
Предварительное концентрирование до показания рефрактометра	1,36–1,3620	1,3605	1,3613	1,3608
Объем раствора альбумина, л.		23,0	22,0	24,0

Значения показателей указывают на пригодность раствора альбумина для проведения дальнейших стадий ультрафильтрации.

Показатели ультрафильтрационной системы и раствора альбумина на стадии диафильтрации представлен в Таблице 2.

Таблица 2. – Показатели ультрафильтрационной системы и раствора альбумина на стадии диафильтрации

Показатель	Критерии приемлемости	Номер загрузки		
		1023	1123	1223
Дата проведения		06.03.23	13.03.23	20.03.23
Поверка рефрактометра	Проводится раз в год	18.05.22	18.05.22	18.05.22
Калибровка рефрактометра	Проводится в соответствии с ТНПА	Проведена	Проведена	Проведена
Температура р-ра, °С	5±1	5,6	5,8	5,1
Объем раствора альбумина, л.		23,0	22,0	24,0
Объем воды высокоочищенной, л.	Не менее 10 объемов к объему раствора альбумина	230	220	240
Температура воды высокоочищенной, °С	5±1 °С	4,5	5,1	5,3
Скорость вращения мешалки, об/мин	Не более 60	60	60	60
Избыточное давление на входе, МПа	0,1–0,2	0,11	0,15	0,12
Избыточное давление на выходе, МПа	0,07–0,17	0,08	0,12	0,09
Проба с 20% ТХУ	отрицательная	отрицат.	отрицат.	отрицат.
Контроль содержания спирта в пермеате по рефрактометру	1,333±0,002	1,333	1,332	1,332

Полученные результаты не выходят за рамки допустимых пределов и соответствуют требованиям нормативных документов. Проба с 20% ТХУ не дала положительного результата, что свидетельствует о целостности мембраны. Давление и температура находились в необходимом диапазоне, что позволило предотвратить денатурацию альбумина. Значения показателей преломления также находились в нужном диапазоне. Это значит, что были достигнуты необходимые концентрации альбумина в растворе, а также, что концентрация спирта была снижена до нуля.

**Выводы.** Метод тангенциальной ультрафильтрации позволяет получить препарат альбумина с необходимыми показателями, значительно уменьшив затраты высокоочищенной воды и времени. Результаты исследований могут быть использованы для валидации процесса тангенциальной ультрафильтрации и включения его в ГФ РБ.

#### Список использованных источников

1. Евтушенков, А. Н. Введение в биотехнологию: Курс лекций./ А. Н. Евтушенков, Ю. К. Фомичев. – Мн. : БГУ, 2002. – 105 с.
2. Обработка растворов альбумина и иммуноглобулина с помощью ультрафильтрационной системы «ПЕЛЛИКОН» [Электронный ресурс]: техн. бюллетень – Режим доступа <http://ecolabmicrotex.ru/>. – Дата доступа: 28.03.2023.
3. Применение ультрафильтрации для концентрирования и очистки антигенов / А. В. Комиссаров [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2015 – № 1 – С. 79–84.