

**ПЕРСПЕКТИВНІ МАТЕРІАЛИ  
ТА ІННОВАЦІЙНІ ТЕХНОЛОГІЇ:  
БІОТЕХНОЛОГІЯ, ПРИКЛАДНА  
ХІМІЯ ТА ЕКОЛОГІЯ**

Колективна монографія

Київ  
«Світ Успіху»  
2020

УДК 60+54+675.6.01](02)

П27

*Рекомендовано до видання  
Вченою радою Київського національного університету  
технологій та дизайну МОН України  
Протокол № 7 від 29.05.2020 р.*

**Рецензенти:**

**Чумак Віталій Лукич** — доктор хімічних наук, професор, завідувач кафедри хімії і хімічної технології Національного авіаційного університету.

**Кузьмінський Євген Васильович** — доктор хімічних наук, професор, завідувач кафедри екобіотехнології та біоенергетики Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігора Сікорського».

П27 Перспективні матеріали та інноваційні технології: біотехнологія, прикладна хімія та екологія : колективна монографія / за заг. ред. О. Р. Мокроусової. Київ : Світ Успіху, 2020. 492 с.

**ISBN 978-617-7324-38-5**

Колективна монографія відображає результати актуальних наукових досліджень, розроблень, апробацій та практичного застосування у галузі біотехнології, хімічної технології шкіри та хутра, екології та товарознавства шкіряно-хутрової продукції.

Розглянуто питання розроблення та створення нових речовин та матеріалів для хімічних і біотехнологій, удосконалення процесів перероблення сировини біогенного походження, започаткування принципів раціонального природокористування та ресурсозбереження у технологіях виробництва шкіри та хутра, екологічних аспектів виробництва різнофункціональних матеріалів, удосконалення методів очищення промислових стоків, розширення асортименту та підвищення якості натуральних і синтетичних шкір.

Колективна монографія рекомендується для студентів, аспірантів, дослідників, науковців та експертів, що спеціалізуються у галузі біотехнології, хімічної технології та екології.

ISBN 978-617-7324-38-5

© КНУТД, 2020

© Світ Успіху, 2020

*Recommended for publication  
by the Academic Council of Kyiv National University  
of Technologies and Design of Ministry  
of Education and Science of Ukraine  
Protocol № 7 dated May 29 2020.*

***Reviewers:***

**Chumak Vitaly Lukich** — Doctor of Chemistry, Professor, Head of the Department of Chemistry and Chemical Technology of National Aviation University

**Kuzminskiy Yevgeniy Vasylyovych** — Doctor of Chemistry, Professor, Head of the Department of Ecobiotechnology and Bioenergy of National Technical University of Ukraine «Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute»

Advanced materials and innovative technologies: Biotechnology, Applied Chemistry and Ecology : collective monograph / edited by Olena Mokrousova. Kyiv : Svit Uspichu, 2020. 492 p.

**ISBN 978-617-7324-38-5**

The collective monograph summarizes the results of current scientific research, development, testing and application in the fields of biotechnology, chemical technology of leather and fur, ecology and commodity science of leather and fur products. It is discussed the issues of development of new substances and materials for chemical and biotechnologies as well as improvement of biogenic raw materials processing along with the principles of rational environmental management and resource conservation in leather and fur technologies. Moreover, the ecological aspects of production of various functional materials, improvement of industrial wastewater treatment methods, expansion range and increasing the quality of natural and synthetic leathers were also considered.

Collective monograph is recommended for undergraduates and graduated students, researchers, scientists and experts in biotechnology, chemical technology and ecology.

# ЗМІСТ

<b>ВСТУП.....</b>	<b>8</b>
<b>РОЗДІЛ 1. БІОТЕХНОЛОГІЯ.....</b>	<b>21</b>
<b>1.1 Розробка біотехнологічних продуктів на основі відходів     колагенвмісної сировини.....</b>	<b>22</b>
Ціла О. О., Ракша Н. Г., Галенова Т. І., Вовк Т. Б., Савчук О. М., Мокроусова О. Р., Остапченко Л. І.	
<b>1.2 Alkaline and enzymatic keratin hydrolysates obtained     from sheep wool.....</b>	<b>37</b>
Mariana Daniela Berechet, Carmen Gaidau, Maria Stanca, Demetra Simion, Cosmin Alexe, Dana Gurau, Maria Râpă, Marius Becheritu	
<b>1.3 The influence of surfactants in the context of novel     biotechnologies, for elastin membrane preparation .....</b>	<b>54</b>
Demetra Simion, Carmen Gaidau, Gabriela Paun, Daniela Berechet, Olga Niculescu, Maria Stanca	
<b>1.4 К вопросу о возможности использования краевой обрезки     лап северного оленя для получения белкового гидролизата...63</b>	
Шалбуев Дм. В., Раднаева В. Д., Советкин Н. В.	
<b>1.5 Отримання продуцента рекомбінантного фактора росту     ендотелію судин.....</b>	<b>74</b>
Окунев О. В., Горбатюк О. Б., Похолоenko Я. О., Іродов Д. М., Кордюм В. А.	
<b>1.6 Біоактивні пептиди молозива як складові компоненти     потенційного поліфункціонального парафармацевтика .....</b>	<b>80</b>
Лич І. В., Моцар А., Волошина І. М.	
<b>1.7 Регуляція клітинного циклу GC-1 spg I GC-2 spd .....</b>	<b>105</b>
Шемедюк Н. П.	

<b>1.8 Тіосульфонати: шляхи їх синтезу та перспективи застосування.....</b>	<b>116</b>
Монька Н. Я., Василюк С. В., Баранович Д. Б., Стадницька Н. Є., Паращин Ж. Д., Хоміцька Г. М., Шиян Г. Б., Комаровська-Порохнявець О. З., Гавриляк В. В., Швед О. В., Мартирисян І. А., Бочарова О. В., Новіков В. П., Лубенець В. І.	
<b>1.9 Біотехнологія калусної біомаси як метод збереження біорізноманіття лікарських рослин.....</b>	<b>137</b>
Петріна Р. О., Загородня Д. С., Ільків Б.-В. В., Суберляк С. А., Князева К. С., Гавриляк В. В.	
<b>1.10 Нанокосметика: плюси та мінуси .....</b>	<b>146</b>
Гавриляк В. В., Федорова О. В., Петріна Р. О.	
<b>1.11 Бактериоцини, синтезируемые <i>Lactobacillus</i> .....</b>	<b>158</b>
Волошина І. Н., Красинько В. О., Бойко Т. О., Льч І. В., Шкотова Л. В.	
<b>1.12 Основні ресурси хітину і хітозану грибного походження...178</b>	
Нікітіна О. О., Нікіфорова Д. О.	
<b>1.13 Біолюмінесцентне тестування та особливості тест-систем на основі люмінесцентних бактерій .....</b>	<b>188</b>
Кондратюк О. О., Сидоренко Д. В., Грецький І. О.	
<b>1.14 Сучасні біотехнологічні методи отримання колагену... 198</b>	
Шидловська О. А.	
<b>1.15 Особливості виділення колагену біомедичного призначення зі шкір ссавців .....</b>	<b>212</b>
Майстренко Л. А.	
<b>1.16 Особливості функціонування колагену в процесі загоєння ран .....</b>	<b>224</b>
Юнгін О. С.	
<b>1.17 Біотехнологічні аспекти розробки вірусних вакцинних препаратів .....</b>	<b>232</b>
Жолобак Н. М.	

<b>РОЗДІЛ 2. ПРИКЛАДНА ХІМІЯ .....</b>	<b>243</b>
<b>2.1 Articles made of sheep fur with therapeutic properties .....</b>	<b>244</b>
Olga Niculescu, Carmen Gaidau, Demetra Simion, Mariana Daniela Berechet, Dana Gurau	
<b>2.2 Бесхромовое дубление в присутствии солей цинка .....</b>	<b>254</b>
Чурсин В. И.	
<b>2.3 О возможности укрепления кожной ткани пушно-мехового сырья соединениями олигомерного характера .....</b>	<b>264</b>
Островская А. В., Латфуллин И. И., Шагивалиева Р. Р., Щелокова В. С.	
<b>2.4 Исследование влияния анионного ПАВ на подготовительные процессы обработки шкур кролика .....</b>	<b>275</b>
Лутфуллина Г. Г., Петрова С. А., Хайрутдинова Р. И.	
<b>2.5 Обработка меха высокочастотной плазмой пониженного давления .....</b>	<b>282</b>
Баллыев С. Б., Шарифуллин Ф. С., Вознесенский Э. Ф.	
<b>2.6 Оценка смачивающей способности композиций ПАВ .....</b>	<b>289</b>
Лутфуллина Г. Г., Хайрутдинова Р. И., Петрова С. А.	
<b>2.7 Исследование влияния плазменной модификации на гигиенические свойства кожи из шкур камбалы .....</b>	<b>296</b>
Шорохов А. А., Тихонова В. П., Рахматуллина Г. Р., Туканова С. Х., Осетрова И. А.	
<b>2.8 Підвищення ефективності рідинного оздоблення велюру шляхом застосування модифікованих дисперсій монтмориленіту .....</b>	<b>305</b>
Охмат О. А., Бондарева А. О., Мокроусова О. Р.	
<b>2.9 Застосування модифікованих дисперсій монтмориленіту у хромзбережному дубленні шкір .....</b>	<b>314</b>
Жалдак М. П., Мокроусова О. Р.	

<b>2.10 Екологічно орієнтована технологія виготовлення гідрофобізованого хутрового велюру .....</b>	<b>334</b>
Данилкович А. Г., Романюк О. О., Ліщук В. І.	
<b>2.11 Вплив старіння на властивості шкір, виготовлених із використанням полімерних матеріалів на основі ненасичених карбонових кислот під час рідинного оздоблення .....</b>	<b>352</b>
Майстренко Л. А., Андреева О. А., Мережко Н. В.	
<b>РОЗДІЛ 3. ЕКОЛОГІЯ ТА ТОВАРОЗНАВСТВО ШКІРИ І ХУТРА ..</b>	<b>371</b>
<b>3.1 Технологія очищення стічних вод фармацевтичних підприємств від антибіотиків.....</b>	<b>372</b>
Саблій Л. А., Жукова В. С.	
<b>3.2 Біологічне очищення висококонцентрованих стічних вод шкіряного виробництва .....</b>	<b>384</b>
Ребрикова П. А., Мокроусова О. Р.	
<b>3.3 Вдосконалення методів очищення стічних вод від іонів хрому .....</b>	<b>393</b>
Сакалова Г. В., Василінич Т. М., Петрук Г. Д.	
<b>3.4 Товарознавча експертиза півпальто з хутряного велюру, що перебувало в експлуатації.....</b>	<b>407</b>
Омельченко Н. В., Браїлко А. С., Лисенко Н. В.	
<b>3.5 Модифіковані волокнисто-сітчасті матеріали типу «шкіркартон» на основі колагену та целюлози.....</b>	<b>422</b>
Фордзюн Ю. І., Андреева О. А.	
<b>3.6 Дослідження пластичності та формостійкості шкір, виготовлених за різних умов рідинного оздоблення.....</b>	<b>432</b>
Первая Н. В., Андреева О. А.	
<b>3.7 Стан ринку дитячого взуття та натуральних шкір для його виготовлення.....</b>	<b>441</b>
Жалдак М. П., Мокроусова О. Р.	
<b>3.8 Екошкіра: фейки та реальність .....</b>	<b>459</b>
Касьян Е. Є.	

## 1.15 ОСОБЛИВОСТІ ВИДІЛЕННЯ КОЛАГЕНУ БІОМЕДИЧНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ ЗІ ШКУР ССАВЦІВ

Майстренко Л. А.

Київський національний університет технологій та дизайну, Україна  
*maystrenko.la@knutd.edu.ua*

*Основне завдання роботи — проаналізувати відомі методи виділення та очищення колагену, оцінити їх ефективність та можливість використання екстрагованого колагену для отримання біосумісних матриць. Особливу увагу приділено виділенню колагену типу I зі шкір ссавців.*

**Ключові слова:** *колаген типу I, методи виділення та очищення, біосумісність*

Тканинна інженерія — галузь медицини, яка передбачає лікування різних патологій введенням у місце ураження живих ауто- або алогенних клітин на поверхні або всередині будь-якого носія, яким найчастіше є білки позаклітинного матриксу та серед них, здебільшого, колаген. Завдяки унікальному й майже ідентичному амінокислотному складу для всіх організмів колагену притаманна слабка імуногенність, що сприяє його широкому медичному та біотехнологічному застосуванню [1]. Часто імуногенність колагенових препаратів можна пояснити присутністю домішок, зокрема неколагенових білків, тому необхідне ретельне очищення колагену, який призначений для тканинної інженерії [2].

Нині зростає інтерес до процесів виділення колагену та його похідних унаслідок популяризації тенденції до використання цього білка при заміні синтетичних матеріалів у різних галузях, а також для забезпечення раціонального перероблення побічних продуктів забою тварин. Колаген для технологічних, медичних та інших цілей отримують екстрагуванням його з багатих на нього тканин. Найбільш поширені три способи



вилучення колагену: екстрагування у кислому середовищі після попереднього видалення домішок (неколагенових білків та кислих протеогліканів), ферментативне та лужно-сольове екстрагування [3]. Деякі дослідження довели доцільність використання ультразвуку в поєднанні з традиційними методами екстрагування [4].

**Структура, види, характеристика колагену.** Колаген — фібрилярний білок, який є основою сполучної тканини й становить 30 % усіх білків організму ссавців [3]. Він міститься у шкірі, кістках, судинах, хрящах, дентині зубів тощо. Основна структурна одиниця колагену складається з трьох поліпептидних ланцюгів, розташованих у вигляді потрійної спіралі з двома однаковими ланцюгами ( $\alpha 1$ ) та третім, який певною мірою відрізняється за своїм хімічним складом ( $\alpha 2$ ), тобто це — гетерополімер. Кожен ланцюг має 1050 амінокислот, намотаних одна навколо одної, у типовій правій гвинтовій структурі довжиною 300 нм діаметр становить близько 1,5 нм, молекулярна маса — близько 290000 а.о.м. [5]. У хребетних є різні види колагену, вони зазвичай містять близько 35 % гліцину (*Gly*), 11 % аланіну (*Ala*), 21 % проліну (*Pro*) та гідроксипроліну (*Hyp*). Амінокислотна послідовність колагену здебільшого повторювана трипептидна одиниця (*Gly-X-Y*), де X найчастіше *Pro*, а Y — *Hyp* [6]. Повідомлялося щонайменше про 29 різних типів колагену, які складаються із 46 різних ланцюгів поліпептидів, їх класифікують за структурою на: волокнистий, неволокнистий, мікрофібрилярний (нитчастий) та ті, які асоціюються з фібрилами [7]. Усі типи колагену мають характерну потрійну спіраль, однак довжина спіралі, розмір та характер негвинтової частини змінюються залежно від типу [8]. Серед них виокремлено 5 найпоширеніших:

- колаген I (шкіра, кістки, зуби, сухожилля, зв'язки, судинна лігатура, органи (основна складова органічної частини кістки));
- колаген II (очі та хрящі (основна складова хряща));
- колаген III (сітчастий (основна складова ретикулярних волокон), шкіра, м'язи, судини);

- колаген IV (утворює секретійно-епітеліальний шар базальної мембрани та базальної пластинки);
- колаген V (волосся, клітинні поверхні, плацента).

Колагени типу I, II та III є найбільш поширеними та добре дослідженими для біомедичного використання. Їх використовують як пластичний матеріал у різних галузях медицини та косметології, а також у фармацевтичній промисловості як речовини, що продовжують дію лікарських засобів [9, 10]. У ссавців 95 % припадає на колаген I типу [3], який використовують у тканинній інженерії.

Колаген володіє високою міцністю на розрив, що проявляється його присутністю у сухожиллях, кістках, хрящах, фасціях тощо. Він надає еластичності та міцності шкірі та допомагає у розвитку тканин та органів. Колаген забезпечує захист шкіри через пригнічення всмоктування токсинів та патогенів [11]. Він бере участь у біологічних функціях клітини (виживання клітин, розмноження та диференціювання), допомагає при загоєнні пошкоджених кісток або судин й підтримує їх структурну цілісність [12].

Дослідження показали, що *in vivo* чи *in vitro* в фізіологічних умовах та при достатній концентрації, паличкоподібні молекули колагену агрегують бічними поверхнями з певним зсувом, утворюючи фібрили з правильною специфічною структурою, однаковою для утворених *in vivo* та *in vitro* [13]. При цьому з фібрил утворюються гель-осади, в які можна включати клітини [14], й практично всі клітини організму прекрасно існують в цих гелях, перебудовують їх та розмножуються в них, що і є основою так званих тканинних еквівалентів та певною мірою всієї тканинної інженерії [15]. По краях потрійної спіралі колагену знаходяться невеликі неколагенові послідовності — тілопептиди, що містять лізин та аргінін, які беруть участь в утворенні міжмолекулярних зшивок, що забезпечують міцність фібрил та колагенових гелів [16].

**Джерела колагену.** Колаген можна добувати з різних видів тварин, його здебільшого отримують від побічних продуктів забою тварин. Основними джерелами колагену є шкіра, сухо-

жилля, хрящі та кістки. Деякі дослідження стосуються способів отримання колагену з різних тваринних джерел, зокрема риб та птахів, як альтернативу колагену з великої рогатої худоби (ВРХ) через ризик зоонозу, а також як альтернативу колагену, отриманому від свиней, для використання в мусульманських країнах.

М'ясо є основним продуктом, отриманим від забою тварин, водночас усі інші відходи та субпродукти класифікують як побічні продукти [17], включно з кістками, сухожилля, шкірую жировими тканинами, рогами, копитами, ногами, кров'ю та внутрішніми органами. Вихід побічних продуктів залежить від виду, статі, віку та маси тіла тварини. Уміст колагену в них коливається від 10–30 % у ВРХ, свиней та овець, у птиці — від 5–6 % [18]. За даними [17], близько 40 % цих побічних продуктів є їстівними, а 20 % — неїстівними. Залежно від культури та країни, їстівні субпродукти можуть розглядати як відходи або як дороговартісні делікатеси. Однак більшість побічних продуктів не є придатними для споживання людиною. Унаслідок цього втрачається потенційне джерело доходу, й зростають витрати на утилізацію відходів. Сьогодні зростає усвідомлення того, що ці побічні продукти можуть бути цінними ресурсами при правильному використанні. Неїстівні побічні продукти використовують при виробництві добрив, кормів для тварин та палива, а також для отримання мінералів, жирних кислот, вітамінів, гідролізатів білка та колагену.

*Велика рогата худоба (ВРХ)* — одне з головних промислових джерел колагену. Перобляють зазвичай шкіру та кістки. Ахілове сухожилля використовують промислово для отримання колагену I типу, тип IV отримують з ворсинок плаценти, а тип II — із носового або суглобового хряща. Тварин використовують на різних стадіях розвитку. Колаген зі шкіри ВРХ застосовують для зміцнення сухожиль, шкіри та загоєння ран (як колагенову матрицю); неонатальну дерму ВРХ — для відновлення гриж, пластичної та реконструктивної хірургії; перикард дорослої ВРХ — для відновлення гриж та зміцнення м'язів [19]. Одним із головних недоліків колагену з ВРХ є те, що майже

3 % населення має на нього алергічну реакцію. Через спалах таких захворювань, як трансмісивна губчаста енцефалопатія, ящур, сказ, які небезпечні для людини, дослідники шукають альтернативне та безпечніше джерело колагену.

*Свині.* Шкіру та кістки свиней використовують для отримання колагену промислового призначення. Оскільки свинячий колаген дуже схожий на людський, ризик виникнення алергічної реакції нижчий порівняно з колагеном з ВРХ. Однак такий колаген теж становить небезпеку зоонозу, а в деяких країнах свиней заборонено використовувати через релігійні обмеження. Дерму та кишки застосовують для зміцнення сухожиль, відновлення гриж, загоєння шкіри та ран, пластичної та реконструктивної хірургії [20].

*Морські тварини та риби.* На сьогодні це найбезпечніше джерело отримання колагену, яке охоплює використання морських безхребетних та хребетних тварин, зокрема риб, медуз, губок, морських їжаків, восьминогів, кальмарів, каракатиць, морських анемон та креветок. Такий колаген має низку переваг: низька запальна реакція, менша імуногенність, метаболічна сумісність, відсутній ризик зоонозу, обмежені релігійні та етичні аспекти його використання. Основними недоліками цього колагену є низька температура денатурації та обмежений доступ до джерел сировини (особливо на території України), проблеми регулювання та контролювання якості готової продукції.

При екстрагуванні колагену з прісноводних або морських риб здебільшого використовують кістки, шкіру, плавники та луску. Це зі свого боку сприяє зменшенню забруднення навколишнього середовища, оскільки побічні продукти вважають відходами при переробці риби.

*Інші джерела.* До них належить колаген з: курятини, хвостів кенгуру, сухожиль щурячого хвоста, качиних ніг, сухожиль та перикарду коней, кісток та шкір алігаторів, ніг птахів, шкір овець та кіз, шкір жаб та, навіть, людей [21]. Використовували рекомбінантний людський колаген, у якого нижча імуногенність порівняно з іншими джерелами. Перикард коней застосовували для зміцнення сухожиль, загоєння шкіри, ран та відновлення

гриж. Колаген I та II типу екстрагували зі шкур коней, суглобового хряща та сухожилля [20]. Вилучення колагену з відходів після забою птиці також досліджувалося, однак небезпеку становить ризик передачі пташиного грипу [22].

**Сфери біомедичного застосування колагену.** Колаген вважають одним із найкорисніших біоматеріалів, оскільки його широко застосовують у промисловості. У харчовій промисловості великий попит на колаген та желатин через високий вміст у них білка та їх функціональні властивості, зокрема здатність до поглинання води, гелеутворення, здатність утворювати та стабілізувати емульсії.

Колаген у фармацевтичній та біомедичній галузях застосовують як мікрочастинки, ін'єкційні дисперсії, щитки в офтальмології, систему доставки ліків, замітник шкіри, судин та зв'язок людини. Це пояснюється такими його характеристиками, як слабка антигенність, здатність до приєднання клітин, біорозкладаність та біосумісність. Колаген типу I вважають золотим стандартом для тканинної інженерії завдяки високій біосумісності. Його використовують як основну матрицю для системи клітинної культури. Широко застосовують біоматеріали на основі колагену, зокрема матриці для ін'єкцій, риштування, призначені для регенерації кісток тощо [19]. У сучасній медицині риштування на основі колагенів відіграють життєво важливу роль. Це допомагає в реконструкції хрящів та кісток. При судинній та серцевій реконструкції у пацієнтів успішно прищеплюють колаген подібний до тканинних інженерійних судин. Використовують пов'язки на основі колагену як губки, плівки та порошки для ран або опіків, хірургічні шви, при урогенітальних розладах, дефектах рогівки, вивченні нервової міграції, в стоматології, кістковій трансплантації, при артритих та ожирінні [23]. Колаген має різноманітне застосування у кардіології (серцевий клапан), дерматології (для заміни шкіри, збільшення м'яких тканин, інженерії шкіри), хірургії (як кровоспинний засіб, при відновленні ран та перев'язуванні, відновленні нервів, протезів кровоносних судин), ортопедії (відновлення сухожиль, кісток

та зв'язок, реконструкція хрящів), офтальмології (рогові трансплантати, контактні лінзи), урології (гемодіалізні мембрани, відновлення сфінктера) [24].

**Вилучення колагену зі шкір ссавців.** Лише повністю або частково розчинний колаген може бути використаний у виробництві матриць для тканинної інженерії, порошоків, губок, волокон або ниток. Розподіл молярної маси, структури та складу, а також функціональні особливості та властивості колагену залежать від умов перероблення сировини, з якої його отримують та матеріалів, що використовують у процесі екстрагування [25]. Тобто для кожного виду сировини потрібно підбирати параметри процесу, щоб отримати найкращі характеристики екстрагованого колагену. Завдяки надзвичайному розмаїттю тканин та типів колагену важко розробити стандартний метод його вилучення. Кількість ковалентних міжмолекулярних взаємодій у структурі колагену збільшується в часі й часто визначає майже повну нерозчинність отриманого продукту [26]. Для екстрагування колагену необхідно видалити численні ковалентні внутрішньо- та міжмолекулярні поперечні зв'язки, які передусім містять залишки лізину та гідроксилізину, ефірні зв'язки та інші зв'язки із полісахаридами.

Процес вилучення та очищення колагену передбачає [26]:

- оброблення сировини при температурі  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  або  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- видалення неколагенових білків за допомогою хлориду натрію, гідроксиду натрію чи гідроксиду кальцію;
- нейтралізацію розчином хлоридної або етанової кислоти;
- оброблення кислотою або ферментом;
- морфологічний аналіз;
- екстрагування колагену, включно з діалізом з етановою кислотою або динатрієвим гідрофосфатом;
- аналіз амінокислотного складу, електрофорез, визначення температури денатурації, рентгенофракційний аналіз, УФ-спектральний аналіз.

Попереднє оброблення проводять для видалення неколагенових речовин та збільшення виходу колагену. Найчастіше застосовують вилучення, засноване на розчинності колагену

в нейтральних сольових розчинах, кислих розчинах, а також кислих розчинах з доданими ферментами.

Завдяки своїй будові колаген сполучної тканини розчиняється дуже повільно навіть у киплячій воді через наявність великої кількості водневих зв'язків між суміжними молекулами. Тому для їх розриву використовують оброблення розведеними розчинами кислот та основ. Унаслідок цього ланцюги колагену залишаються неушкодженими, а поперечні зв'язки зазнають часткового гідролізу [25].

*Хімічний гідроліз.* При сольовому гідролізі колагену використовують нейтральні сольові розчини хлориду натрію, трис-гідроксиметилу, амінометану гідрохлориду, фосфатів або цитратів.

При кислотному гідролізі сировину занурюють у розчин з кислотою реакцією середовища. Коли розчин проникає у структуру шкіри, вона збільшується в об'ємі у два-три рази, й відбувається гідроліз нековалентних між- та внутрішньомолекулярних зв'язків. Такий спосіб найкраще підходить для екстрагування колагену з сировини з нецільним переплетенням колагенових волокон, наприклад при обробленні шкір свиней та риб [27]. Кислотний гідроліз можна проводити з використанням органічних (етанової, лимонної, молочної кислот) та неорганічних кислот (хлоридної). Органічні кислоти здатні солюбілізувати незшиті колагени, а також порушити деякі поперечні зв'язки, що призводить до їх більшої розчинності під час екстрагування [28].

Для екстрагування кислоторозчинного колагену попередньо оброблений матеріал додають до розчину кислоти, зазвичай 0,5 М етанової, та витримують протягом 24–72 год при постійному перемішуванні при температурі 4 °С, залежно від виду сировини. Після екстрагування проводять фільтрування для відділення супернатанту (залишку) від колагену, який знаходиться в рідкій фазі. Для отримання колагенового порошку фільтрат осаджують хлоридом натрію. Осад збирають центрифугуванням, а потім повторно розчиняють у мінімальному об'ємі 0,5 М етанової кислоти, діалізують у 0,1 етановій

кислоті протягом 2 днів та дистильованій воді протягом 2 днів із заміною розчину в середньому кожні 12 год [29].

Під час очищення колагену потрібно усунути антигенні компоненти білка, представлені ділянками тілопептидних фрагментів колагену типу I. Таке очищення є більш ефективним після оброблення пепсином. Ще однією проблемою є довготривалість процесу екстрагування, яка становить від 1 до 3 тижнів, з високою втратою білка й частковою деградацією колагенових пептидів. Тому корисність вилученого кислотою колагену обмежена, оскільки виділений матеріал повинен зберігатися в холодному розчині етанової кислоти або сушитися. Максимальна концентрація колагену, яку можна отримати, також обмежена й становить 10 мг/мл [26].

Після кислотного гідролізу отримують нативну, тобто трьохспірально, молекулу колагену з непошкодженими тілопептидами. Такий продукт здатний утворювати пружні гелі.

Лужний гідроліз полягає в обробленні сировини основним розчином гідроксидом натрію протягом періоду, який може зайняти від кількох днів до декількох тижнів [25]. Таке оброблення проводять для товстих матеріалів, які потребують більш агресивної дії. Лужно-сольове екстрагування (оброблення колагену лугом за насиченого розчину сульфатнокислого натрію, а потім екстрагування кислотою) дає високий вихід розчинного колагену зі збереженою потрібною спіраллю, однак із дезамінуванням залишків аспарагінової (*Asp*) та глутамінової кислот (*Glu*), внаслідок чого розподіл зарядів уздовж трьохспіральної молекули колагену порушується, й колаген втрачає здатність до фібрилоутворення, отже, такий колаген не утворює гелів [25].

*Ферментативний гідроліз* проводять протеазами — пепсином або трипсином, дія яких не руйніє потрібну спіраль, а лише неколагенові домени та неколагенові білки. Отримують нативну молекулу колагену з пошкодженими тілопептидами, здатну утворювати непружні гелі.

Для вилучення колагену ферментативним гідролізом сировину, яка може бути залишком після кислотного вилучення колагену, додають до 0,5 М розчину етанової кислоти, що



містить ферменти. Суміш безперервно перемішують протягом 48 год при 4 °С з подальшим фільтруванням. Фільтрат піддають осіданню та діалізу при тих же умовах, що й для отримання кислоторозчинного колагену [29].

Ферментативний гідроліз має деякі переваги порівняно з хімічним: специфічність, контроль ступеня гідролізу, помірні умови дії та менший вміст солі в кінцевому гідролізаті. Крім того, ферменти, зазвичай, можуть бути використані в дуже низьких концентраціях без обов'язкового видалення з середовища. Незважаючи на високу вартість ферментативного гідролізу, він має такі переваги: знижується кількість відходів, можливо контролювати процес, а продукт отримують з вищим вмістом колагену.

Спосіб екстрагування може впливати на довжину поліпептидних ланцюгів й функціональні властивості колагену, зокрема в'язкість, розчинність, а також здатність утворювати гелі та емульсії. Однак, за деякими свідченнями, тільки колаген, отриманий після кислотного гідролізу, підходить для біотехнологічного використання й тканинної інженерії [30].

**Висновки.** У зв'язку з важливістю розроблення біосумісних матриць на основі природного колагену було розглянуто сировинні джерела колагену та особливості процесу екстрагування з колагенвмісної сировини.

Способи вилучення можуть сприятливо й негативно впливати на властивості отриманого колагену: термостабільність, молярну масу, гелеутворюючу здатність тощо. Кислотний гідроліз може бути ефективним, однак ферментативне екстрагування, не зважаючи на високу вартість, має низку переваг: специфічність, швидкість процесу, можливість контролювання ступеня гідролізу, помірні умови дії та зменшена кількість відходів.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Chvapil M., Kronental R. I., van Winkle W. Medical and surgical applications of collagen. *Int. Rev. Connect. Tis. Res.* 1973. № 6. P. 1–60.
2. Timpl R. Antibodies to collagen and procollagen. *Meth. Enzymol.* 1982. № 82. P. 482–498.

3. Истранов Л. П., Бондарева Л. Н. Использование коллагенсодержащего сырья для медицинских и микробиологических целей. Лекарства, средства, экономика, технология и перспективы получения. 1969. № 4. С. 1–43.
4. Schmidt M. M., Dornelles R. C. P., Mello R. O., Kubota E. H., Mazutti M. A., Kempka A. P., Demiate I. M. Collagen extraction process. *International Food Research Journal*. 2016. № 23 (3). P. 913–922.
5. Szpak P. Fish bone chemistry and ultrastructure: implications for taphonomy and stable isotope analysis. *Journal of Archaeological Science*. 2011. № 38 (12). P. 3358–3372.
6. Nelson D. L., Cox M. M., Lehninger. *Principles of Biochemistry*. 4 ed. New York: W. H. Freeman, 2005. 1119 p.
7. Damodaran S., Parkin K., Fennema O. R. *Química de alimentos de fennema*. 4a ed. São Paulo: Artmed, 2010. p. 726–730.
8. Miller E. J. Biomedical and industrial application of collagen in *Extracellular Matrix Biochemistry*, New York: Elsevier, 1984. С. 41–81.
9. Brodsky B. Variations in collagen fibril structure in tendons. *Biopolymers*. 1982. Vol. 21. P. 935–951.
10. Miller E. J., Rhodes R. K. Preparation and characterization of the different types of collagen in *Methods in Enzymology*. Academic Press. 1982. P. 33–64.
11. Fratzl P. *Collagen: Structure and Mechanics*. New York: Springer, 2008. 496 p.
12. Buehler M. J. Nature designs tough collagen: Explaining the nanostructure of collagen fibrils. *PNAS*. 2006. Vol. 103 (33). P. 12285–12290.
13. BirK D. E., Bruckner P. 2005. Collagen suprastructures. *Top. Curr. Chem.* Vol. 247. P. 185–205.
14. Bell E., Ivarsson B., Merrill C. 1979. Production of a tissue-like structure by contraction of collagen lattices by human fibroblasts of different proliferative potential in vitro. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. Vol. 76. P. 1274–1278.
15. Bell E. Organotypic and hystotypic models of engineered tissues. In: *Principles of tissue engineering*. San-Diego: Academ. Press., 2000. P. 181–193.
16. Eyre D. R., Wu J. J. Collagen cross-links. *Top Curr. Chem.* 2005. Vol. 247. P. 207–209.
17. Bhaskar N., Modi V. K., Govindaraju K., Radha C., Lalitha R. G. Utilization of meat industry by products: protein hydrolysate from sheep visceral mass. *Bioresource Technology*. 2007. Vol. 98 (2). P. 388–394.
18. Nollet L. M. L., Toldra F. 2011. *Handbook of Analysis of Edible Animal By-Products*. Gent, Belgium: CRC Press. P. 3–11.
19. Parenteau-Bareil R., Gauvin R., Berthod F. Collagen-Based Biomaterials for Tissue Engineering Applications. *Materials*. 2010. Vol. 3 (3): P. 1863–1887.
20. Cortial D., Gouttenoire J., Rousseau C. F., Ronziere M. C., Piccardi N., Msika P., Herbage D., Mallein-Gerin F., Freyria A. M. Activation by IL-1 of bovine articular chondrocytes in culture within a 3D collagen-based scaffold.

An in vitro model to address the effect of compounds with therapeutic potential in osteoarthritis. *Cartilage*. 2006. Vol. 14. P. 631–640.

21. Johnson K. A., Rogers G., Roe S. C., Howlett C. R., Clayton M., Milthorpe M. K., Schindhelm K. Nitrous acid pretreatment of tendon xenografts cross-linked with glutaraldehyde and sterilized with gamma irradiation. *Biomaterials*. 1999. Vol. 20. P. 1003–1015.

22. Saito M., Kiyose C., Higuchi T., Uchida N., Suzuki H. Effect of collagen hydrolysates from salmon and trout skins on the lipid profile in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009. Vol. 57(21). P. 10477–10482.

23. Sanz-Herrera J. A., Reina-Romo E. Cell-Biomaterial Mechanical Interaction in the Framework of Tissue Engineering: Insights, Computational Modeling and Perspectives. *Int. J. Mol. Sci.* 2011. Vol. 12. P. 8217–8244.

24. Rose F. R., Oreffo R. O. Bone tissue engineering: hope vs hype. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002. Vol. 292. P. 1–7.

25. Prestes R. C. Colageno e seus derivados: características e aplicacoes em produtos carneos. *Revista Unopar Cientffica Ciencias Biologicas e da Saúde*. 2013. Vol. 15 (1). P. 65–74.

26. Mocan E., Tagadiuc O., Nacu V. Aspects of Collagen Isolation Procedure. *Clinical Research Studies*. 2011. № 2(320). P. 3–5.

27. Almeida P. F., Araüjo M. G. O., Santana, J. C. C. Collagen extraction from chicken feet for jelly production. *Acta Scientiarum. Technology*. 2012. Vol. 34(3). P. 345–351.

28. Liu D., Wei G., Li T., Hu J., Lu N., Regenstein, J. M., Zhou, P. Effects of alkaline pretreatments and acid extraction conditions on the acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Food Chemistry*. 2015. Vol.172. P. 836–843.

29. Wang L., Liang Q., Chen T., Wang Z., Xu J., Ma H. 2014. Characterization of collagen from the skin of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*). *Food Hydrocolloids*. Vol. 38. P. 104–109.

30. Кухарева Л. В., Шамолина И. И., Полевая Е. В. Метод получения коллагена из телячьей шкуры для тканевой инженерии и клеточного культивирования. *Цитология*. 2010. Т. 52. № 7. С. 597–602.