

УДК 57.043:57.086.132

А.И. ОСЕЦКИЙ<sup>1\*</sup>, В.И. ГРИШЕНКО<sup>1</sup>, А.Н. ГОЛЬЦЕВ<sup>1</sup>, М.А. КРАВЧЕНКО<sup>1</sup>, Е.В. СТРЮЧКОВА<sup>2</sup>**Криогенные технологии в производстве фармацевтических, косметических, агротехнических препаратов и биологически активных пищевых добавок**

UDC 57.043:57.086.132

A.I. OSETSKY<sup>1\*</sup>, V.I. GRISCHENKO<sup>1</sup>, A.N. GOLTSEV<sup>1</sup>, M.A. KRAVCHENKO<sup>1</sup>, E.V. STRYUCHKOVA<sup>2</sup>**Cryogenic Technologies in Production of Pharmaceutical, Cosmetic, Agrotechnical Formulations and Biologically Active Food Additives**

Рассмотрен процесс низкотемпературного молекулярного фракционирования биологического сырья растительного и животного происхождения с помощью современных криогенных технологий: быстрого замораживания в азотных криотуннелях, криодиспергирования, криосублимационного фракционирования, экстракции сжиженными газами. Обсуждаются варианты использования получаемых фракций в производстве фармацевтических, ветеринарных, агротехнических, косметических препаратов и высоковитаминизированных продуктов питания.

**Ключевые слова:** азотный криотуннель, криодиспергирование, криосублимационное фракционирование, экстракция сжиженными газами.

Розглянуто процес низькотемпературного молекулярного фракціонування біологічної сировини рослинного та тваринного походження за допомогою сучасних криогенних технологій: швидкого заморожування в азотних криотунелях, криодиспергування, криосублимаційного фракціонування, екстракції скрапленими газами. Обговорюються варіанти використання отриманих фракцій у виробництві фармацевтичних, ветеринарних, агротехнічних, косметичних препаратів і високовітамінізованих продуктів харчування.

**Ключові слова:** азотний криотунель, криодиспергування, криосублимаційне фракціонування, екстракція скрапленими газами.

There has been considered the process of low temperature molecular fractionation of biological raw materials of plant and animal origins using contemporary cryogenic technologies: rapid freezing in nitrogen cryotunnels, cryodispersion, cryosublimation fractionation, extraction with condensed gases. The variants of using the resulted fractions in the production of pharmaceutical, veterinary, agrotechnical, cosmetic formulations and highly vitaminized food products are under discussion.

**Key words:** nitrogen cryotunnel, cryodispersion, cryosublimation fractionation, extraction with liquified gases.

Современное производство фармацевтических препаратов, косметических средств, пищевых добавок характеризуется неуклонным ростом использования биологически активного сырья растительного и животного происхождения. Это имеет объективные причины, так как натуральное биологическое сырье является уникальным источником необходимых человеку витаминов, микроэлементов, растительных кислот, антибиотиков, алкалоидов, пектинов, гликозидов и многих других веществ, на основе которых можно создавать препараты принципиально нового типа. Однако на пути их создания возникают сложнейшие технологические проблемы, связанные с получением молекулярных ингредиентов, сохраняющих нативную структуру и свойства важных для организма человека активных комплексов.

Contemporary production of pharmaceutical formulations, cosmetic preparations, food additives is characterized with constant growing application of biologically active raw materials of plant and animal origin. This fact has the objective reasons, since natural biological raw material is an unique source of necessary for human vitamins, microelements, plant acids, antibiotics, alkaloids, pectines, glycosides and many other substances, basing on which the formulations of principally new type may be created. However on the way of their creation the complicated technological problems, related to the obtaining of molecular ingredients, keeping native structure and properties of active complexes, the most important for human organism, appear.

Today the technologies enabling the obtaining of the spectrum of biologically active substances during

<sup>1</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

<sup>2</sup>Национальный технический университет "ХПИ", г. Харьков

\* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию: ул. Перейславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: (+38 057) 373-38-71, факс: +38 (057) 373-30-84, электронная почта: cryo@online.kharkov.ua

<sup>1</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

<sup>2</sup>National Technical University "Kharkov Polytechnical Institute", Kharkov, Ukraine

\* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.:+380 57 373 3871, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

В настоящее время наиболее перспективны технологии, позволяющие получать спектр биологически активных субстанций в процессе биосинтеза, и криотехнологии, дающие возможность выделять их из исходного биологического сырья. К сожалению, повторить в производственных условиях биохимические процессы, реализуемые в растениях за счет направленного синтеза под действием солнечного света, сложно и дорого, что является причиной пристального внимания в наиболее развитых странах мира к криогенным технологиям переработки биологического сырья. По-видимому, в ближайшем будущем им не будет альтернативы с точки зрения качества получаемых натуральных биологически активных субстанций молекулярного уровня, являющихся источником новых продуктов различного назначения. В рамках данных тенденций Институт проблем криобиологии и криомедицины НАНУ совместно с ЗАО "Криокон" и ЗАО "Институт криогенных технологий" создали специализированный комплекс криогенного молекулярного фракционирования биологического сырья растительного и животного происхождения, представляющий многоступенчатую технологическую линию. К основным видам используемого в комплексе криогенного оборудования относятся криотуннели для сверхбыстрого замораживания исходного растительного сырья в парах жидкого азота и криомельницы для его измельчения при температурах  $-60...-120^{\circ}\text{C}$  в инертной среде, исключая перегрев и окисление. Исходное сырье, измельченное с помощью специально разработанных установок до микронных размеров, подвергается в дальнейшем криосублимационной сушке и криосублимационному молекулярному фракционированию, низкотемпературной экстракции жирорастворимых витаминов и других биологически важных липидных фракций сжиженными газами. На последних этапах переработки сырья выделяются необходимые белково-пептидные комплексы с помощью установки для реализации программируемых режимов криокавитации и криоконцентрирования.

#### **Основные технологические этапы криогенного молекулярного фракционирования биологического сырья**

Для обеспечения непрерывной работы производственного комплекса используется свежзамороженное сырье, заготавливаемое с помощью быстрого замораживания в азотных криотуннелях (рис.1). Особенность разработанных криотуннелей – наличие блоков предварительного охлаждения *D*. Отходящие из зоны интенсивного замораживания сырья *B* пары жидкого азота, температура которых лежит в пределах  $-40...-80^{\circ}\text{C}$ , с помощью

биосинтеза и тех криобиологических технологий, позволяющих выделить их из исходного биологического сырья, являются наиболее перспективными. К сожалению, повторить в производственных условиях биохимические процессы, реализуемые в растениях за счет направленного синтеза под действием солнечного света, сложно и дорого, что является причиной пристального внимания в наиболее развитых странах мира к криогенным технологиям переработки биологического сырья. В ближайшем будущем им не будет альтернативы с точки зрения качества получаемых натуральных биологически активных субстанций молекулярного уровня, являющихся источником новых продуктов различного назначения. В рамках данных тенденций Институт проблем криобиологии и криомедицины НАНУ совместно с ЗАО "Криокон" и ЗАО "Институт криогенных технологий" создали специализированный комплекс криогенного молекулярного фракционирования биологического сырья растительного и животного происхождения, представляющий многоступенчатую технологическую линию. К основным видам используемого в комплексе криогенного оборудования относятся криотуннели для сверхбыстрого замораживания исходного растительного сырья в парах жидкого азота и криомельницы для его измельчения при температурах  $-60...-120^{\circ}\text{C}$  в инертной среде, исключая перегрев и окисление. Исходное сырье, измельченное с помощью специально разработанных установок до микронных размеров, подвергается в дальнейшем криосублимационной сушке и криосублимационному молекулярному фракционированию, низкотемпературной экстракции жирорастворимых витаминов и других биологически важных липидных фракций сжиженными газами. На последних этапах переработки сырья выделяются необходимые белково-пептидные комплексы с помощью установки для реализации программируемых режимов криокавитации и криоконцентрирования.

#### **Basic technological stages of cryogenic molecular fractionation of biological raw materials**

To provide the stable functioning of production complex there are used freshly frozen raw materials, procured by means of rapid freezing in nitrogen cryotunnels (Fig. 1). The peculiarity of the designed cryotunnels is the presence of pre-cooling blocks *D*. Coming from the zone of intensive freezing of the raw materials *B* the liquid nitrogen vapors, the temperature of those is within the range of  $-40...-80^{\circ}\text{C}$  are supplied into the pre-cooling block by means of cryogenic charger. Pre-cooling of initial raw materials from  $30...25^{\circ}\text{C}$  down to  $5...2^{\circ}\text{C}$  provides 15–20% economy of liquid nitrogen and simplifies the achieving of "shock" cooling protocols with the rates of 50–100 degree/min in the zone *B*. The experiments show that only during cooling of biological raw materials with the rate of  $v_{cool} > 30-40$  degrees/min within the temperature interval  $0...-50^{\circ}\text{C}$  it is possible to preserve the activity of comprised in it enzymes and hormones as well as native structure

криогенного нагнетателя подаются в блок предварительного охлаждения. Предварительное охлаждение исходного сырья от 30...25°C до 5...2°C обеспечивает 15–20%-ю экономию жидкого азота и упрощает достижение “шоковых” режимов охлаждения со скоростями 50–100 град/мин в зоне В. Эксперименты показывают, что только при охлаждении биологического сырья со скоростями  $v_{охл} > 30\text{--}40$  град/мин в интервале температур 0...–50°C удается сохранить активность содержащихся в нем ферментов и гормонов, а также нативную структуру витаминных и минеральных комплексов [8]. По-видимому, это связано с тем, что быстрое охлаждение минимизирует время контакта биомолекул с гиперконцентрированной жидкой фазой, возникающей при образовании кристаллов льда, и исключает необратимую деформацию клеток за счет их обезвоживания при внеклеточной кристаллизации. В то же время такие скорости являются оптимальными с точки зрения подготовки сырья к внутриклеточной кристаллизации [1].

Важным этапом подготовки сырья к фракционированию является его криогенное измельчение, позволяющее:

- получать значительно меньшие средние размеры частиц в конечном продукте при тех же параметрах выходных сеток в камере помола;

- полностью исключать перегревы продукта в местах локального выделения тепловой энергии при разрыве химических связей и диссипации механической энергии за счет того, что избыточное тепло идет на компенсацию теплоты плавления льда;

- вести процесс измельчения при более высоких температурах рабочей среды в камере помола, используя пластические сдвиги и трещинообразование в кристаллах льда для фрагментации находящихся в ледяной матрице биокомплексов;

- оптимизировать дальнейшие технологические этапы переработки биологического сырья, в том числе его последующую лиофилизацию, за счет увеличения удельной поверхности сублимации при предварительном измельчении;

- включать в технологический цикл операции, предотвращающие попадание атмосферной влаги на охлажденный измельченный порошок, и необходимые при криоизмельчении предварительно высушенных продуктов;

- получать качественно новые продукты, например мелко дисперсные свежемороженные фруктово-ягодные или овощные порошки, которые могут использоваться при изготовлении высоковитаминизированных

of vitamin and mineral complexes [8]. It is likely related to the fact that rapid cooling minimizes the contact time of biomolecules with hyperconcentrated liquid phase, appearing during the formation of ice crystals and excludes irreversible cell deformation due to their dehydration at extracellular crystallization. At the same time these rates are optimal from the point of view of raw materials' preparing to intracellular crystallization [1].

An important stage of raw material preparing to fractionation is its cryogenic grinding, allowing:

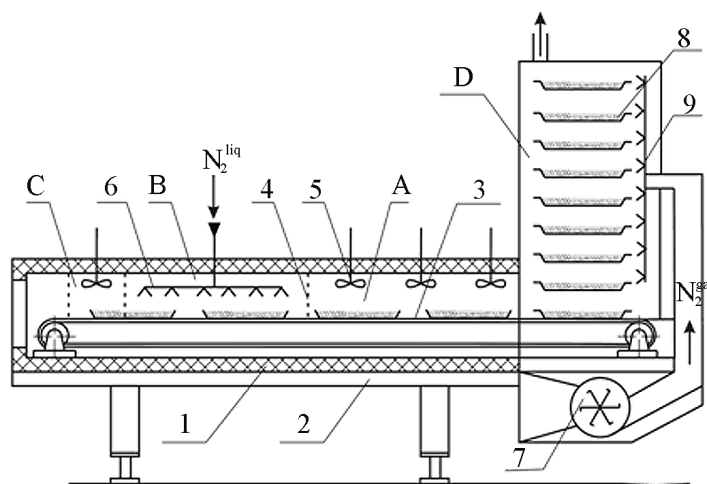
- the obtaining of quite small average sizes of particles in a final product under the same parameters of output grids in the mill chamber;

- a complete exclusion of the product overheating in the sites of local heat energy production at the bonds' opening and dissipation of mechanical energy due to the fact the surplus heat compensates the ice melting one;

- the performing of the grinding process at higher temperatures of operating medium in the mill chamber, using plastic shifts and crack-formation in ice crystals for fragmentation of biological complexes being in an ice matrix;

- the optimization of further technological stages of processing of biological raw material, including its following freeze-drying due to the increase of sublimation specific area at preliminary grinding;

- the exclusion from technological cycle of the operations causing the transfer of atmosphere moisture



**Рис. 1.** Принципиальная схема азотного туннельного замораживателя: А – зона охлаждения, В – зона интенсивного замораживания (орошения), С – зона выравнивания температуры, D – блок предварительного охлаждения: 1 – туннель; 2 – рама; 3 – транспортная лента; 4 – штора; 5 – вентилятор; 6 – форсунка зоны замораживания; 7 – криогенный нагнетатель; 8 – поддоны с сырьем; 9 – форсунка блока предварительного охлаждения.

**Fig. 1.** Principle diagram of nitrogen tunnel freezer: A – cooling zone; B – intensive freezing zone (spraying); C – temperature zone; D – block of pre-cooling: 1 – tunnel; 2 – frame; 3 – transport; 4–5 – fan; 6 – freezing zone; 7 – cryogenic charger; 8 – trays with raw material; 9 – spray of pre-cooling block.

сортов мороженого, йогуртов, свежих соков с натуральным цветом, ароматом и высокими вкусовыми качествами.

На рис. 2 показана схема криомельницы, обеспечивающей измельчение свежзамороженного сырья с производительностью 50–150 кг/ч [4].

В процессе измельчения материал, подаваемый из низкотемпературного хранилища, загружается в бункер 1, откуда с помощью дозатора 2 порционно подается в шнековый питатель 3. Вращающийся с помощью мотора-редуктора 4 шнек 5 перемещает замороженное сырье в камеру помола 6. Конструкция питателя предусматривает доохлаждение подаваемого в камеру помола сырья до требуемых температур с помощью поступающей в питатель через штуцер 10 азотной парожидкостной смеси. Помол сырья в камере 6 происходит за счет его контакта с билами 7, линейная скорость перемещения которых при их вращении с помощью электродвигателя 8 с частотой 3500 об/мин составляет 55 м/с. Температура рабочей среды в пределах  $-40 \dots -150^\circ\text{C}$  в камере помола и питателе регулируется автоматическим регулятором температуры 9, связанным с системой дозированной

на охлажденный порошок, и needed at cryogrinding of pre-dried products;

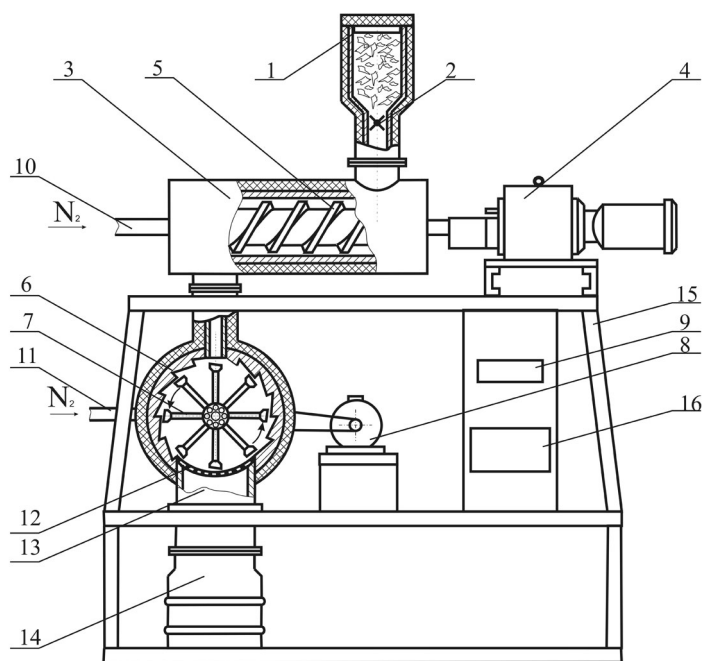
– the obtaining of qualitatively new products, e.g. finely dispersed freshly frozen fruit-berry or vegetable powders, which may be used during production of highly vitamin ice-creams, yoghurts, fresh juices of natural color, flavor and high taste quality.

Fig. 2 shows the diagram of cryomill, providing the grinding of freshly frozen raw material with the product rate of 50–150 kg/hr [4].

During grinding the material supplied from low-temperature storehouse, are loaded into the bin 1, wherefrom using the dozer 2 it is supplied into screw feeder 3. Rotating by means of motor gear 4 the auger 5 removes the frozen raw material into mill chamber 6. The construction of feeder foresees the aftercooling of the supplied into the mill chamber raw material down to the needed temperatures using the entering into the feeder via the connection 10 of nitrogen vapor liquid mixture. The raw material grinding in the chamber 6 proceeds due to its contact with the beaters, moving linear speed of which at their rotation by means of electric motor 8 with the rate of 3,500 rot/min makes 55 m/s. The temperature of operating medium within

the limits of  $-40 \dots -150^\circ\text{C}$  in mill chamber and feeder is regulated by automatic temperature controller 9, connected to the system of dozed supply of coolant via the connections 10 and 11. The grinded raw material due to centripetal forces and excess pressure of nitrogen vapors in the mill chamber is blown-up via the output grid 12 and hung sleeve 13 into receiving tank 14. The grinding rate for raw material, *i. e.* the average size of yielding from the mill chamber particles is determined both the temperature of medium of mill chamber and the dimensions of holes on output grid 12, which may vary within 0.5–5 mm. Correspondingly the average size of particles depending on experimental technological conditions may alter within the limits of 10–500  $\mu\text{m}$ . All the operating mounting groups of cryomill are set on the operating frame and power-connected by means of the control panel 16.

The peculiarity of this stage of cryogenic grinding is the determining by thermoplastic analysis method of optimal temperature of cryogenic grinding  $T_{opt}$  for each certain type of raw materials [4]. This is necessary for reduction of prime cost of the cryogenic grinding itself, since the rise of temperature in the mill chamber higher than  $T_{opt}$  results in a sharp decrease of the mill productivity rate and the aggravation of the quality of the obtained powder, and at a significant grinding temperature decrease lower



**Рис. 2.** Криогенный измельчитель: 1 – бункер; 2 – дозатор; 3 – шнековый питатель; 4 – мотор-редуктор; 5 – шнек; 6 – камера помола; 7 – била; 8 – электродвигатель; 9 – регулятор температуры; 10, 11 – штуцера; 12 – выходная сетка; 13 – рукав; 14 – приемная емкость; 15 – опорная станина; 16 – пульт управления.

**Fig. 2.** Cryogenic blender: 1 – bin; 2 – dozer; 3 – screw feeder; 4 – motor gear; 5 – auger; 6 – mill chamber; 7 – beaters; 8 – electric motor; 9 – temperature controller; 10, 11 – connections; 12 – output matrix; 13 – hung sleeve; 14 – receiving tank; 15 – supporting frame; 16 – control panel.

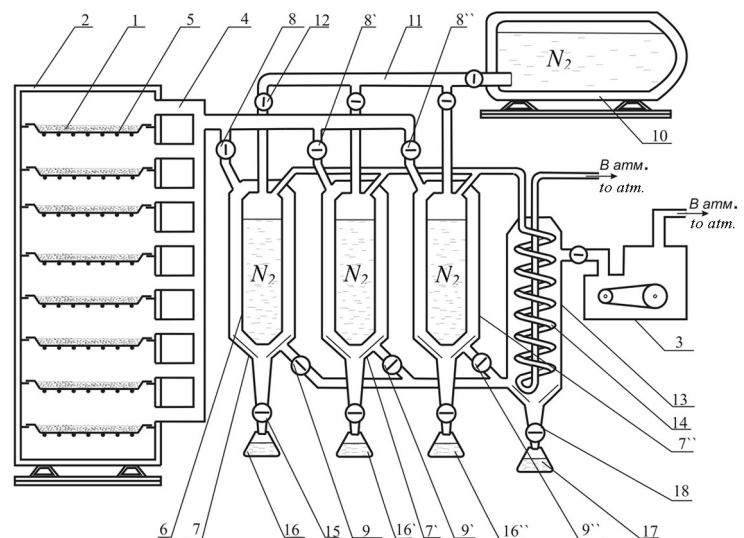
подачи хладагента через штуцера 10 и 11. Измельченное сырье за счет центробежных сил и избыточного давления паров азота в камере помола выдувается через выходную сетку 12 и рукав 13 в приемную емкость 14. Степень измельчения сырья, т. е. средний размер выходящих из камеры помола частиц, определяется как температурой среды в камере помола, так и размерами отверстий на выходной сетке 12, которые могут изменяться в пределах 0,5–5 мм. Соответственно средний размер частиц в зависимости от технологических условий эксперимента может лежать в пределах 10–500 мкм. Все рабочие узлы криомельницы устанавливаются на опорной станине 15 и подключаются к электропитанию с помощью пульта управления 16.

Особенность этапа криогенного измельчения – определение с помощью метода термопластического анализа оптимальной температуры криогенного измельчения  $T_{opt}$  каждого конкретного вида сырья [4]. Это необходимо для снижения себестоимости именно криогенного измельчения, так как повышение температуры в камере помола выше  $T_{opt}$  приводит к резкому снижению производительности мельницы и ухудшению качества получаемого порошка, а при значительном понижении температуры помола ниже  $T_{opt}$  увеличивается расход азота и уменьшается средний срок эксплуатации основных узлов криомельницы, т. е. существенно повышается себестоимость продукции.

На рис. 3 представлена принципиальная схема комплекса для реализации следующего технологического этапа – криосублимационного фракционирования биологических материалов [5]. Согласно схеме поддоны 1 с предварительно замороженным и криодиспергированным на роторно-ударной криомельнице (см. рис. 2) сырьем помещаются в вакуумную камеру 2, где при температуре  $-25^{\circ}\text{C}$  и давлении 1,2 мм рт. ст. начинается его лиофилизация. Весь период лиофилизации (15 ч), заканчивающийся при температуре сырья  $20^{\circ}\text{C}$  и давлении в камере 0,1 мм рт. ст., для разделения низкомолекулярных водных фракций разбивается на 3 временных интервала по 5 ч каждый. В процессе первого интервала  $\Delta t_1$  молекулярные потоки фракции  $F_1$  из сублимационной камеры 2 осаждаются на охлаждаемых жидким азотом криопанелях десублиматора 7, в то время как остальные десублиматоры перекрыты вентилями 8' и 8''. Десублиматор 7' за время  $\Delta t_2$  прини-

than  $T_{opt}$  the nitrogen expenditure increases and average exploitation term of main mounting groups of cryomill reduces, *i. e.* prime cost of the resulted products considerably increases.

Fig. 3 shows the general appearance of the complex for realization of the following technological stages, cryosublimation fractionation of biological materials [5]. According to the scheme the trays 1 with preliminary frozen and cryodispersed with rotary-impact cryomill (see Fig. 2) raw material are placed into vacuum chamber 2, where at  $-25^{\circ}\text{C}$  and pressure of 1.2 mm of mercury column its freeze-drying starts. Within the whole period of freeze-drying (15 hrs), terminating at the raw material temperature of  $20^{\circ}\text{C}$  and pressure in the chamber of 0.1 mm of mercury column, for separation of low molecular aqueous fractions is divided into 3 time intervals by 5 hrs each. During the first interval  $\Delta t_1$  the molecular fluxes of fraction  $F_1$  from



**Рис. 3.** Установка для криосублимационного разделения низкомолекулярных водных фракций биологических материалов: 1 – поддоны с биоматериалами; 2 – сублимационная камера; 3 – форвакуумный насос; 4 – вакуум-проводы; 5 – инфракрасные нагреватели; 6 – криогенные панели основных десублиматоров; 7, 7', 7'', 7''' – основные десублиматоры; 8, 8', 8'' и 9, 9', 9'' – вакуумные вентили основных десублиматоров; 10 – криогенная емкость с жидким азотом; 11 – криопроводы; 12 – криогенные вентили; 13 – защитный десублиматор; 14 – криогенная панель защитного десублиматора; 15 – сливные вентили основных десублиматоров; 16, 16', 16'' – приемные емкости основных десублиматоров; 17 – приемная емкость защитного десублиматора; 18 – сливной вентиль защитного десублиматора.

**Fig. 3.** Assembly for cryosublimation separation of low molecular aqueous fractions of biological materials: 1 – trays with biomaterials; 2 – sublimation chamber; 3 – forevacuum pump; 4 - vacuum hoses; 5 – infrared heaters; 6 – cryogenic plates of main desublimators; 7, 7', 7'', 7''' – main desublimators; 8, 8', 8'' and 9, 9', 9'' – vacuum faucets of main desublimators; 10 – cryogenic vessel with liquid nitrogen; 11 – cryohoses; 12 – cryogenic faucets; 13 – protective desublimator; 14 – cryogenic plate of protective desublimator; 15 – drain valves of main desublimators; 16, 16', 16'' – receiving tanks of main desublimators; 17 – receiving tank of protective desublimator; 18 – drain valve of protective desublimator.

мают на себя молекулярные потоки фракции  $F_2$  при закрытых вентилях 8 и 8''. Аналогично на десублиматоре 7'' осаждается фракция  $F_3$  за время  $\Delta t_3$ . После окончания процессов лиофилизации и отогрева десублиматоров водные фракции  $F_1, F_2, F_3$  сливаются в отдельные приемные емкости 16, 16', 16'' соответственно. Для их защиты от молекул форвакуумного масла из насоса 3, интенсивность потока которых возрастает по мере снижения температуры панелей 6 основных десублиматоров, в комплексе используется защитный десублиматор 13, охлаждаемый парами жидкого азота, испаряющегося в основных десублиматорах. Практика показывает, что данный подход к молекулярному разделению низкомолекулярных водных фракций в весовом диапазоне 50–500 а.е.м. не имеет аналогов как по качеству разделения, так и по сохранности биологических свойств выделяемых молекул.

Следующим важным технологическим этапом является выделение липидных фракций из оставшегося в камере 2 лиофилизированного биоматериала с помощью хладоновых растворителей [6].

Экстракцию липидных фракций из сырья растительного и животного происхождения с помощью сжиженных газов следует отнести к числу интенсивно развивающихся криобиотехнологий. Этому способствует высокое качество получаемых ингредиентов, интенсивно используемых в фармацевтической и косметической продукции, при производстве особо ценных растительных масел и пищевых добавок [3, 6]. Наиболее важным обстоятельством этого этапа является возможность сохранить нативную структуру и свойства выделяемых липидных комплексов за счет уникальности применяемых растворителей. Среди них наиболее перспективными считаются сжиженные хлорфторсодержащие углеводороды: хладоны, описываемые общей формулой  $C_n(H, Cl, F)_{2n+2}$ . Преимущества их применения для экстракции липидов подробно описаны в [6]. К основным можно отнести:

- низкие температуры кипения применяемых сжиженных газов (от  $-30$  до  $-80^\circ\text{C}$ ) позволяют легко удалять растворитель из экстракта даже при комнатных температурах, избегая перегрева биоматериала, что сохраняет биологическую активность конечного продукта и обеспечивает его высокую чистоту и стабильность;

- инертность сжиженных газов исключает химическую деградацию перерабатываемого сырья и получаемых экстрактов;

- физико-химические свойства сжиженных газов обеспечивают их легкое проникновение в биоматериал в процессе экстракции;

- используя различные газы и их смеси можно создавать растворители с заданными избирательными свойствами, т. е. вести селективную экс-

tractions chamber 2 are precipitated on liquid nitrogen-cooled cryoplates of desublimator 7, while the rest desublimators are closed with the faucets 8' and 8''. Desublimator 7' within the time  $\Delta t_2$  takes molecular fluxes of fraction  $F_2$  at the closed faucets 8 and 8''. Similar for sublimator 7'' the fraction  $F_3$  is precipitated for the time  $\Delta t_3$ . After finishing of freeze-drying and thawing of desublimators the aqueous fractions  $F_1, F_2, F_3$  are poured-off into receiving tanks 16, 16', 16'', correspondingly. To protect them from oil molecules of forevacuum pump 3, the flux intensity of those increase with temperature fall of the plates of 6 main desublimators, jointly there is used protective desublimator 13, cooled with liquid nitrogen vapors, evaporating in main desublimators. The practice demonstrates that this approach to molecular separation of low molecular aqueous fractions within weight range of 50–500 a. m. u. have no analogues both on the separation quality and on the integrity of biological properties of the molecules being isolated.

The next important technological stage is isolation of lipid fractions from the remained in the chamber 2 frozen-dried biomaterial using coolant solvents [6].

Extraction of lipid fractions from raw materials of animal and plant origins by means of condensed gases should be referred to the intensively developing cryobiological technologies. High quality of the ingredients to be obtained, widely used in pharmaceutical and cosmetic products, when producing valuable plant oils and food additives, contributes to this [3, 6]. The most important circumstance of this stage is the possibility to preserve native structure and properties of isolated lipid complexes due to the unique nature of the applied solvents. Among them the most perspective are seemed to be the condensed chlorine-fluorine-containing carbohydrates: chlorofluorohydrocarbon, described with a general formula  $C_n(H, Cl, F)_{2n+2}$ . The advantages of their application for extraction of lipids are described in details [6]. To the main ones the following can be referred:

- low temperatures of boiling for the used condensed gases (from  $-30$  down to  $-80^\circ\text{C}$ ) enable an easy removal of solvent from the extract even at room temperatures, avoiding overheating of biological materials, that preserves the biological activity of the final product and provides its high purity and stability;

- inertness of condensed gases excludes chemical degradation of processes raw materials and the extracts being obtained;

- physical and chemical properties of condensed gases provide their easy penetration into biological material during extraction;

- using different gases and their mixtures it is possible to design the solvents with the determined selective properties, *i. e.* selectively extract the certain compounds, not involving other containing in a solvent cake extractive substances.

тракцию определенных соединений, не затрагивая другие содержащиеся в шроте экстрактивные вещества.

Однако подготовка сырья к экстракции сжиженными газами включает технологические этапы, значительно снижающие эффективность всего процесса в целом. Прежде всего это предварительная сушка перерабатываемого сырья до остаточной влажности (5–7%) и его измельчение перед экстракцией до микронных размеров. Это объясняется тем, что содержащаяся в биосырье вода препятствует проникновению в него гидрофобных растворителей, которыми являются хладоны, а размер частиц определяет время диффузионного извлечения липидных молекул.

Применение технологий криогенного измельчения биологических материалов [4] исключает ухудшение качества сырья при его диспергировании. В то же время при обычной сушке, в том числе и при умеренных температурах (40–60°C), биологическая активность большинства наиболее важных ингредиентов начинает падать. Это связано с тем, что уже при удалении 15–20% влаги допустимые концентрации минеральных веществ в жидкой фазе выходят за пределы физиологического интервала, который для сложных биомолекул достаточно узкий [8]. Это неизбежно приводит к деградации их структуры и потере наиболее важных биологических свойств. Экспериментальные исследования изменения биологической активности молекулярных комплексов в процессе переработки наглядно демонстрируют возможность минимизации действия биохимических механизмов повреждения путем криосублимационного высушивания биообъектов, т. е. удаления воды из замороженного (льдообразного) состояния, что исключает изменение химического состава жидкой фазы, нежелательные явления окисления и механической усадки высушиваемого сырья, характерные для всех других видов удаления влаги, а также полностью сохраняет биологическую активность молекул [8]. Именно поэтому для получения высококачественных экстрактов необходимо использовать рассмотренные преимущества криогенной подготовки сырья. В настоящее время только такой комплексный подход позволяет получить уникальные по своим свойствам липидные фракции [8].

Предварительно высушенное и измельченное сырье помещают в экстракторы 3 (рис. 4) и под давлением 8–20 атм заливают жидким хладоном из напорной емкости 2. После заданного времени экстракции, которое определяется видом сырья и требованиями к составу экстракта, хладоны вместе с растворенными в нем веществами через фильтр тонкой очистки сливают в испаритель 4. Одно-

However the preparing of the raw materials to extraction with condensed gases include technological stages, significantly decreasing the effectiveness of the whole process. First of all it is a preliminary drying of processed raw materials of necessary humidity (5–7%) and its grinding prior to extraction to micron sizes. This is explained by the fact that containing in biological raw material water prevents the penetration in it of hydrophobic solvents, which are chlorofluorohydrocarbons, and the size of particles determines the time of diffusive extraction of lipid molecules.

The application of cryogenic grinding technologies for biological materials [4] excludes the aggravation of the quality of raw materials during its grinding. At the same time at common drying, including the one under moderate temperatures (40–60°C) the biological activity of the majority of the most important ingredients starts falling [8]. This is related to the fact that even during removal of 15–20% moisture the admissible concentrations of mineral substances in a liquid phase are overrunning the limits of physiological interval, which is for complex biomolecules quite narrow. This is inevitably results in degradation of their structure and loss of the most important biological properties. Experimental studies of the change in biological activity of molecular complexes during processing evidently demonstrate the possibility of minimization of the effect of damage biochemical mechanisms by means of cryosublimation drying of biological objects, *i. e.* water removal from frozen (ice-like) state, that excludes the change of chemical composition of liquid phase, undesirable oxidation and mechanical shrink of the raw material being dried, characteristic for all other types of moisture elimination, as well as completely preserves biological activity of molecules [8]. This is precisely why to obtain high-quality extracts it is necessary to use the considered advantages of cryogenic preparation of raw material. Nowadays only such a combined approach enables to obtain the unique on their properties lipid fractions [8].

Preliminary dried and grinded raw material is placed into extractors 3 (Fig. 4) and under the pressure of 8–20 atm is poured with liquid chlorofluorohydrocarbon from the gravity tank 2. After the set extraction time, which is determined by the type of raw material and requirements to the extract composition, the chlorofluorohydrocarbon together with the dissolved in it substances through the backup filter is removed into the condenser 4. Simultaneously the operating pressure of chlorofluorohydrocarbon vapours in the condenser reduces, resulting in the boiling-up and evaporation of liquid chlorofluorohydrocarbon. Its vapours enter into condensing unit 1, cooled with cooling aggregate 5, where they are condensed and again enter into the gravity tank. The remained in the condenser fat-soluble fractions are removed into receiving tank 8. The pecu-

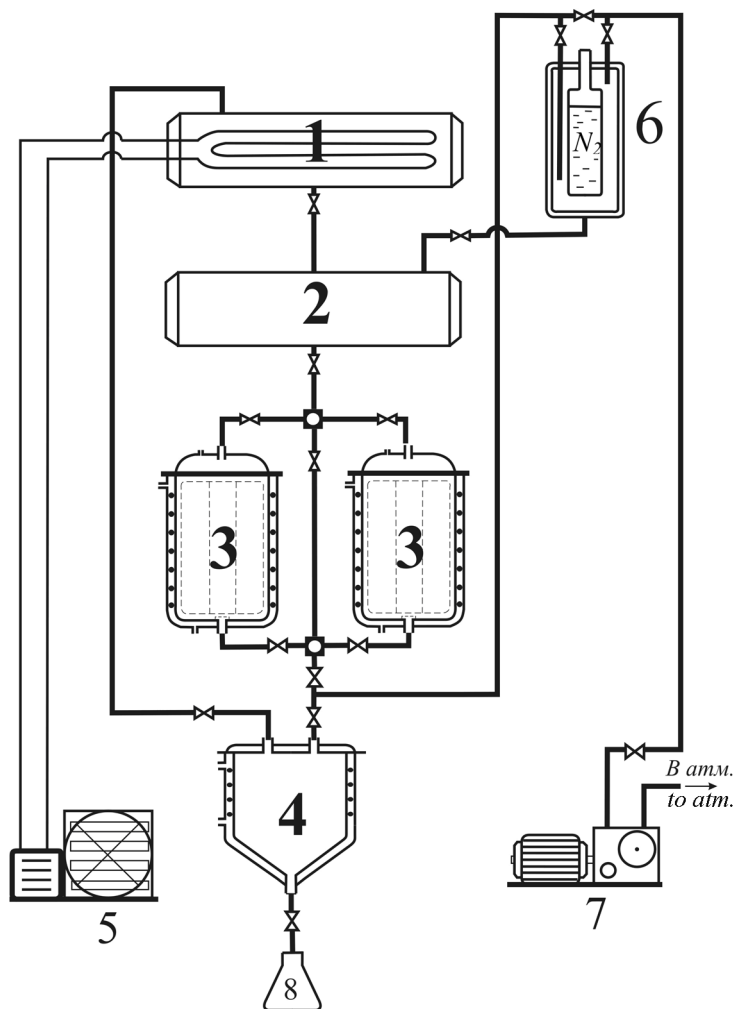
временно рабочее давление паров хладона в испарителе уменьшается, что приводит к вскипанию и испарению жидкого хладона. Его пары поступают в конденсатор 1, охлаждаемый холодильным агрегатом 5, где конденсируются и вновь поступают в напорную емкость. Оставшиеся в испарителе жирорастворимые фракции сливаются в приемную емкость 8. Особенностью работы данной экстракционной установки является использование азотной ловушки специальной конструкции для тщательного удаления хладона из шрота и экстракта с сохранением его в системе. При этом экстрактор вместе с содержащимся в нем шротом откачивается в течение 40–60 мин вакуумным насосом 7, а удаляемые из шрота в процессе откачки пары хладона конденсируются на криопанелях азотной ловушки 6. После откачки ловушка отепляется и хладон сливается в напорную емкость. Такой подход позволяет практически полностью предотвратить выброс хладона в атмосферу и уменьшить его остаточное содержание в шроте и в получаемых жирорастворимых фракциях до 0,01% и ниже. Это особенно важно при их использовании в высококачественных фармацевтических и косметических препаратах. Не менее важны азотные ловушки и для сохранения дорогих эксклюзивно подобранных растворителей, потери которых в обычных установках могут составлять до 2–5% за цикл.

#### Состав и свойства биологически активных молекулярных криофракций

Применение рассмотренных криобиотехнологий для переработки растительного сырья и тканей животных позволяет целенаправленно дифференцировать состав и свойства выделяемых фракций с целью их оптимального безотходного использования в производстве различной продукции. Например, этапы криоизмельчения и криосублимационного фракционирования (см. рис. 2, 3) завершаются разделением свежезамороженного исходного сырья на две фракции: низкомолекулярный водный раствор и сухой порошок.

Комбинирование сублимированных порошков с последующим переводом подобранных смесей в капсулы или таблетки дает возможность создать натуральные препараты для корректировки витаминного или минерального баланса в организме человека. Практика показывает, что такие препараты значительно эффективнее синтетических поливитаминных аналогов [8].

liarity of this extraction device functioning is the use of specially designed nitrogen trap for thorough removal of chlorofluorohydrocarbon from the extraction cake and extract with its keeping in the system. Herewith the extractor together with the containing in it extraction cake is pumped for 40–60 min with vacuum pump 7, and chlorofluorohydrocarbon vapours to be removed from the extraction cake during pumping-down are condensed on cryoplates of nitrogen trap 6. After pumping-down the trap is getting warmer and chlorofluorohydrocarbon is removed into gravity tank. Such an approach enables quite complete prevention of the chlorofluorohydrocarbon yield into atmosphere and reduction of its residual content in the extraction cake and in the resulted fat-soluble fractions down to 0.01% and lower. This is especially important when using them in highly qualitative pharmaceutical and cosmetic preparations. Now less important are nitrogen traps for preserving



**Рис. 4.** Принципиальная схема установки для экстракции сжиженными газами: 1 – конденсатор; 2 – напорная емкость; 3 – экстрактор; 4 – испаритель; 5 – холодильный агрегат; 6 – азотная ловушка; 7 – вакуумный насос.

**Fig. 4.** General appearance of the device for extraction with condensed gases: 1 – condensing unit; 2 – gravity tank; 3 – extractor; 4 – condenser; 5 – cooling aggregate; 6 – nitrogen trap; 7 – vacuum pump.



Получаемые водные фракции, также содержащие витамины, микроэлементы, аминокислоты и другие молекулярные комплексы весом не более 300–500 а. е. м. [5], являются ценными полуфабрикатами для косметического и пищевого производства.

Следующий этап фракционирования – выделение липидов из криосублимированных порошков с помощью сжиженных газов, что при переработке растительного сырья позволяет получить целый спектр уникальных по своим свойствам и составу масел. Содержание наиболее ценных ингредиентов в этих маслах существенно повышается при использовании именно криогенных технологий предварительной подготовки сырья. Так, содержание сквалена в амарантовом масле, по данным тестов на газовом хроматографе HP 6890 PLUS с плазменно-ионизационным детектором (Hewlett-Packard, США), после криогенной подготовки исходного сырья возросло с 3,5 до 7,6 %, т. е. более чем в два раза по сравнению с обычными методами измельчения и тепловой сушки. В то же время кислотное число уменьшалось с 1,8 до 0,79 мг KOH, что свидетельствует о практическом отсутствии окислительных процессов в сырье при его криогенной переработке. Содержание полиненасыщенных жирных кислот (витамин F) в маслах из черной смородины и малины, полученных с помощью криогенных технологий, может составлять 85–90%, а  $\beta$ -каротин в масле из моркови – 20–25%, что недостижимо при обычно применяемых методах их получения. Фактически такие масла сами по себе являются эффективными лекарственными препаратами [3].

Преимущества рассматриваемых безотходных технологий криогенного молекулярного фракционирования наглядно демонстрирует и переработка тканей животных, например свиной плаценты. В данном случае исходное сырье дифференцируется на 3 составляющие: “Амиоплацентин”, “Липоплацентин” и “Криоплацентин” [7, 9].

“Амиоплацентин” – водная фракция, осаждаемая на криогенных панелях десублиматоров комплекса (см. рис. 3). В ее состав входят аминокислоты, витамины, микроэлементы, фрагменты углеводов (аминокислотный состав, ммоль/л: аланин – 10,2; аспаргин – 6,9; аспаргиновая кислота – 6,0; валин – 17,6; гистидин – 47,3; глицин – 13,9; глутаминовая кислота – 17,4; изолейцин – 19,4; лейцин – 14,8; лизин – 40; серин – 10,2; треонин – 7,0). В связи с очень высокой проникающей способностью аминокислотные фракции являются незаменимым компонентом при производстве косметических препаратов и лечебных мазей для наружного применения. Они усиливают процессы биосинтеза и обмен веществ в коже, что повышает

the expensive, exclusively selected solvents, the losses of which in traditional devices may make up to 2–5% per cycle.

### **Composition and properties of biologically active molecular cryofractions**

Application of the considered cryobiological technologies for processing of plant raw materials and animal tissue enables the targeted differentiation of the composition and properties of the fractions to be separated with the aim of their optimal wasteless use in manufacturing of different products. For instance, the stages of cryogrinding and cryosublimation fractionation (see Fig. 2, 3) end with the separation of freshly frozen initial raw materials into two fractions: low molecular aqueous solution and dry powder, vitamin-mineral composition of which for plant raw material is presented in Table.

Combination of sublimated powders with following transfer of the selected mixture into capsules or tablets will provide an opportunity to create natural formulations to correct vitamin or mineral balance in human organism. The practice shows that these formulations are much more effective than synthetic polyvitamin analogues [8].

The obtained aqueous fractions containing vitamins, microelements, amino acids and other molecular complexes with the weight not more than 300–500 atomic weight unit [5] are valuable half-finished goods for cosmetic and food production.

The following stage of fractionation is isolation of lipid from cryosublimated powders using the condensed gases, that during processing of plant raw material enables to obtain the whole spectrum of unique on their properties and composition oils. The content of the most valuable ingredients in these oils significantly increases when using the cryogenic technologies in preliminary preparing of the raw material. So, the content of squalen in amaranth oil according to the tests with gas chromatograph HP 6890 PLUS with plasma-ionization detector (Hewlett Packard, USA) after cryogenic preparing of initial raw material increased from 3.5 to 7.6%, *i. e.* more than twice if compared with traditional grinding methods and thermal drying. At the same time acid number decreased from 1.8 down to 0.79 mg KOH, confirming real absence of oxidative processes in raw material at its cryogenic processing. The content of polyunsaturated fatty acids (vitamin F) in the oils of black currant and raspberry, obtained using cryogenic techniques, may be of 85–90%, and 20–25% of  $\beta$ -carotene in carrot oil, that is unachievable with the methods traditionally used for their obtaining. In fact these oils themselves are effective medicines [3].

The advantages of the considered non-waste technologies of cryogenic molecular fractionation are also

её защитные свойства, индуцирует процессы регенерации клеток, повышает пластичность, замедляет старение, препятствует образованию морщин и пигментных пятен [2]. Косметическую ценность “Аминоплацентина” усиливает содержание в нем гормонов, в частности кортизола, тестостерона, эстрадиола, прогестерона. Интегральный гормональный фон, вносимый в косметические препараты за счет “Аминоплацентина”, повышает интенсивность восстановительных процессов во всех слоях кожи [2].

Рассматриваемые аминокислотные фракции сравнивают с низкомолекулярными биологически активными соками растений и тканей, которые в таком составе и с такими свойствами можно получить только с помощью технологий криосублимационного фракционирования. Их удивительным свойством является также способность выдерживать длительное хранение при комнатных температурах (до 2–3 лет) без консервантов и стабилизаторов [2], что очень важно для производства натуральных косметических лосьонов и тоников. В последнем случае можно говорить о присутствии в них уникальных, пока еще не идентифицированных естественных консервантов биологического происхождения, в том числе на основе ультралетучих эфирных компонентов, сохраняющихся в водных фракциях за счет использования криопанелей, эффективная температура рабочей поверхности которых в процессе фракционирования лежит в пределах  $-120...-150^{\circ}\text{C}$ .

“Липолацентин” – липидная фракция, получаемая в процессе экстракции сжиженными газами по схеме, представленной на рис. 4, и содержащая целый комплекс биологически активных веществ: гексозы, эссенциальные фосфолипиды, триглицериды, витамины и микроэлементы. Данная фракция обладает иммуностимулирующей активностью, нормализует показатели клеточного и гуморального иммунитета, обладает гепатопротекторным и мембраностабилизирующим, противовоспалительным действием, стимулирует ферментную систему и нормализует микробный состав желудочно-кишечного тракта, владеет адаптогенным и стресс-протекторным действием, повышает неспецифическую резистентность организма. Апробация применения “Липолацентина” в ветеринарии показала высокую его эффективность при лечении и профилактике воспалительных заболеваний крупного и мелкого скота, укреплении иммунной системы, лечении болезней кожи, ожогов, нормализации липидного обмена разной этиологии, повышении половой функции производителей, увеличении привесов и сохранности молодняка сельскохозяйственных животных, улучшении качества шерсти у пушных и домашних животных, лечении

vividly demonstrated by processing of animal's tissues, for instance, of porcine placenta. In this case an initial raw material is differentiated into 3 components: Aminoplacentin, Lipoplacentin and Cryoplacentin [7, 9].

Aminoplacentin is aqueous fraction, precipitated on cryogenic plates of complex desublimators (see Fig. 3). It comprises amino acids, vitamins, microelements, fragments of carbohydrates. To exemplify there is presented its amino acid composition (mmol/l): alanine – 10.2; asparagine – 6.9.; aspartic acid – 6.0; valine – 17.6; histidine – 47.3; glycine – 13.9; glythamic acid – 17.4; isoleucine – 19.4; leucine – 14.8; lysine – 40; serine – 10.2; threonine – 7.0. Due to very high penetrating ability the amino acid fractions are essential components during the production of cosmetic formulations and medicinal ointments for external use. They boost the biosynthesis processes and metabolism in skin, that increases its protective properties, induce the processes of cell regeneration, rise the plasticity, slow-down ageing, prevents the formation of wrinkles and pigment spots [2]. Cosmetic value of aminoplacentin is strengthened by the content in it of hormones, in particular cortisol, testosterone, estradiol, progesterone. Integral hormonal background introduced into cosmetic formulations due to aminoplacentin, increase the intensity of recovering processes in all the layers of skin.

Considered amino acid fractions are compared with low molecular biologically active saps of plants and tissues, which in such a composition and with those properties may be obtained only using the technologies of cryosublimation fractionation. Their amazing feature is also the ability to withstand lasting storage at room temperatures (up to 2–3 years) without preservatives and stabilizers [2], that is very important for production of natural cosmetic lotions and tonics. In the latter one may speak about the presence in them of unique not identified yet natural preservatives of biological origin, including those on the base of ultra-fugitive ether components, preserving in aqueous fractions due to the use of cryoplates, effective temperature of operating surface of those during fractionation is within the limits of  $-120...-150^{\circ}\text{C}$ .

Lipoplacentin is a lipid fraction, derived during extraction with condensed gases on the protocol presented in Fig. 4. and comprising the whole complex of biologically active substances: hexose, essential phospholipids, triglycerides, vitamins and microelements. This fraction has an immunotropic activity, hepatoprotective and membrane stabilizing, anti-inflammatory effect, normalizes the indices of cells and humoral immunity, stimulates enzyme system and normalizes microbe composition of gastrointestinal tract, possesses adaptogenic and stress-protective effect, enhances non-specific resistance of an organism. Approbation of the use of Lipoplacentin in veterinary has shown its high efficiency when treating and preventing inflamma-

инфекционных заболеваний домашних животных и пушных зверей в комплексе с антибактериальными препаратами [8].

“Криоплацентин” – белково-пептидная фракция тканей свиной плаценты, получаемая из оставшегося после хладоновой экстракции шрота с помощью кавитационных технологий. В его состав входят аминокислоты, пептиды, нуклеиновые кислоты, гексуроновые кислоты, полисахариды, витамины, микроэлементы. Благодаря этому комплексу “Криоплацентин” обладает противовоспалительным действием, нормализует обменные процессы (в частности белковый, витаминный, минеральный), оказывает детоксицирующее и иммуностимулирующее действия, нормализует показатели клеточного и гуморального иммунитета, является биогенным стимулятором и источником пластического материала [8]. Этот уникальный спектр свойств “Криоплацентина” позволяет широко использовать препараты на его основе в ветеринарии для профилактики и лечения воспалительных заболеваний у крупного и мелкого скота, увеличения привесов и сохранности молодняка животных, для лечения кожных заболеваний, увеличения яйценоскости кур, сохранности и выхода инкубаторных цыплят, для лечения инфекционных заболеваний домашних животных и пушных зверей в комплексе с антибактериальными препаратами, что подтверждено обширными экспериментальными исследованиями [8].

В то же время благодаря своему уникальному составу “Криоплацентин” находит широкое применение в растениеводстве. Согласно опытным данным [8] это наиболее мощный натуральный биостимулятор, позволяющий повышать урожайность важных для Украины сельхозкультур на 30–50%. Наилучшие результаты дает его применение при предпосевной обработке семян или на ранних стадиях их прорастания. Уникальный состав и биологическая сбалансированность компонентов “Криоплацентина” создают оптимальную среду для начала роста растений, а также обеспечивают их основными молекулярными комплексами, что в свою очередь проявляется в более быстром развитии растения, повышении его иммунного статуса. Растение становится более устойчивым к вирусным и грибковым заболеваниям. Препарат способствует созданию в почве микрофлоры, улучшающей рост растений.

## Выводы

Рассмотренные технологии криогенного молекулярного фракционирования открывают новые направления в получении биологически активных ингредиентов из растительного сырья и тканей животных. Используемые при их реализации низкие температуры, инертные среды, вариации

tory diseases of cattle and small cattle, strengthening of immune system, treatment of skin diseases, burns, normalization of lipid exchange of different etiology, increase of sexual function in breeders, rise in weight gain and preservation of young animals of agricultural animals, improvement of fur quality of fur-bearing and domestic animals, treatment of infectious diseases of domestic animals and fur-bearing ones in complex with antibacterial preparations [8].

Cryoplacentalin is protein-peptide fraction of porcine placenta tissue, derived from the rest after chlorofluorohydrocarbon extraction of extraction cake using cavitation technologies. It comprises amino acids, peptides, nucleic acids, hexuronic acids, polysaccharides, vitamins, microelements. Due to this combination Cryoplacentalin has anti-inflammatory effect, normalizes the exchange processes (in particular, protein, vitamin, mineral), renders detoxicating and immune stimulating effect, normalizes the indices of cell and humoral immunity, is biogenic stimulator and source of plastic material [8]. This unique spectrum of properties of Cryoplacentalin enables the wide use of preparation on its base in veterinary for the prevention of inflammatory diseases in cattle and small cattle, increase of weight gain and preservation of young animals, for treatment of skin diseases, rise in egg production in hens, keeping and yield of incubative chickens, for treatment of infectious diseases of domestic animals and fur-bearing animals in the combination with antibacterial preparations, that is confirmed with numerous experimental studies [8].

Cryoplacentalin is also applied in plant-growing. According to experimental data it is the most powerful natural biostimulator, allowing the increased productivity of the important for Ukraine agricultural crops by 30–50%. The highest results are yielded when applying it during pre-saw treatment of seeds at early stages of their germinating. The unique composition and biologically balanced components of Cryoplacentalin create an optimal microenvironment for the beginning of plant growth, as well as provide them with main molecular complexes, that is in its turn manifests in more rapid development of plant, increase of its immune status. The plant is getting more resistant to virus and fungous diseases. The preparation contributes to growth-improving microflora formation in a soil.

## Conclusions

The considered technologies of cryogenic molecular fractionation open new directions in obtaining biologically active ingredients from plant raw materials and animal's tissues. The used at their realization low temperatures, inert media, variations of cooling rates and phase states of the material allow to isolate and concentrate the needed fractions, quite completely preserving herewith the structure and properties of biological molecules. In the result the efficiency of

скоростей охлаждения и фазовых состояний материала позволяют выделить и сконцентрировать необходимые фракции, практически полностью сохраняя при этом структуру и свойства биомолекул. В результате существенно повышается эффективность препаратов, получаемых на их основе, и появляется возможность создания принципиально новых продуктов в фармацевтике, косметике, агротехнике, производстве высоковитаминизированных продуктов питания и пищевых добавок.

### Литература

1. *Гордиенко Е.А., Пушкарь Н.С.* Физические основы низкотемпературного консервирования клеточных суспензий.–Киев: Наук. думка, 1994.–144 с.
2. *Иваненко Т.А., Осецкий А.И.* Программа биологического обновления кожи // Сборник докладов 2-й научно-практической конференции "Здоровье нации и программа "Эко-эволюция".– Киев, 2006.– С. 51–55.
3. *Касьянов Т.И.* Анализ современных технологий пищевой биоиндустрии // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии.– 2008.– Т. 4, №2.– С. 48–56.
4. *Осецкий А.И., Стрючкова Е.В.* Особенности криогенного измельчения свежзамороженного биологического сырья // Холодильная техника и технология.– 2008.– №1.– С. 57–62.
5. *Осецкий А.И., Грищенко В.И., Снурников А.С. и др.* Криосублимационное фракционирование биологических материалов // Пробл. криобиологии.– 2006.– Т. 16, №2.– С. 230–240.
6. *Подольский А.Г., Осецкий А.И.* Современные криобиологические технологии переработки растительного сырья: Справ. пособие.– Харьков: НТУ "ХПИ", 2001.– 311 с.
7. *Технічні умови.* Продукти криогенного фракціонування тканин плаценти тварин.– ТУ У 24.5-31940411-001:2007.
8. *Шабунин С.В., Востроилова Г.А., Осецкий А.И. и др.* Интеграция высокоэффективных криогенных технологий с биологическим скринингом – современный путь создания биологически активных веществ природного происхождения // Материалы третьего съезда общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова.– Москва, 2005.– С. 129–131.
9. *Патент України №5120. МПК7 А61К 35/50.* Спосіб переробки тканини плаценти людини / В.І. Грищенко, О.І. Осецький, Г.О. Бабійчук, Ю.Г. Федченко, М.І. Щетинський, М.О. Осецька.– Заявлено 07.07.2004. Опубл. 15.02.2005. Бюл. №2.

Поступила 24.03.2009

formulations obtained on their base significantly increases and the possibility of creation of principally new products in pharmaceuticals, cosmetics, agricultural engineering, production of highly vitamin food products and additives appears.

### References

1. *Gordienko E.A., Pushkar N.S.* Physical grounds of low temperature preservation of cell suspensions.– Kiev: Naukova dumka, 1994.– 144p.
2. *Ivanenko T.A., Osetsky A.I.* Program of biological skin renewal // Proc. of Reports of the 2nd Scientific and Practical Conference "Health of nation and program of "Eco-evolution".– Kiev, 2006.– P. 51–55.
3. *Kasyanov T.I.* Analysis of current technologies of food bio-industry // Vestnik Biotekhnologii i Fiziko-Khimicheskoy Biologii.– 2008.– Vol. 4, N2.– P. 48–56.
4. *Osetsky A.I., Stryuchkova E.V.* Peculiarities of cryogenic disintegration of freshly frozen biological raw material// Kholodilnaya tekhnika i tekhnologiya.– 2008.– N1.– P. 57–62.
5. *Osetsky A.I., Grisichenko V.I., Snurnikov A.S. et al.* Cryosublimation fractionation of biological materials// Problems of Cryobiology. – 2006. – N2. – P. 230-240.
6. *Podolsky A.G., Osetsky A.I.* Modern cryobiological technologies of processing of raw materials: Reference book.– Kharkov: "KhPI" National Technical University, 2001.– 311p.
7. *Technical specifications.* Products of cryogenic fractionation of animals placenta tissues.– TU U 24.5-31940411-001:2007.
8. *Shabunin S.V., Vostrilova G.A., Osetsky A.I. et al.* Integration of highly effective cryogenic technologies with biological screening - modern way to create biologically active substances of natural origin// Proc. of the 3rd congress of the Society of Biotechnologists of Russia named by Yu.A. Ovchinnikov.– Moscow, 2005.– P. 129–131.
9. *Patent of Ukraine N 5120. IPC7 A61K 35/50.* The way of processing of human placenta tissue. V.I. Grisichenko, O.I. Osetsky, G.O. Babiychuk, Yu.G. Fedchenko, M.I. Schetinsky, M.O. Osetska. Applied 07.07.2004. Publ. 15.02.2005. Bul. N2.

Accepted in 24.03.2009