

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології

«До захисту в ЕК»

Директор інституту(декан факультету)

Наталія ГРЕГІРЧАК

(підпис)

(ім'я та прізвище)

«__» __ лютого 2024 р.

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри

Віктор СТАБНІКОВ

(підпис)

(ім'я та прізвище)

«__» __ лютого 2024 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА

зі спеціальності 162 «Біотехнології» та
біоінженерія»

(код та назва спеціальності)

освітньо-професійної програми Фармацевтична біотехнологія

на тему: Використання бактерій для біосинтезу наночасток срібла з
антимікробною дією

Виконав: здобувач 2 курсу, групи 2

ВОВК Тетяна Андріївна

(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

(підпис)

Керівник СКРОЦЬКА Оксана Ігорівна

(прізвище, ім'я та по батькові повністю)

(підпис)

Консультанти

(прізвище та ініціали)

(підпис)

(прізвище та ініціали)

(підпис)

(прізвище та ініціали)

(підпис)

Рецензент

(прізвище та ініціали)

(підпис)

Я як здобувач(ка) Національного університету харчових технологій розумію і підтримую політику університету з академічної доброчесності. Я не надавав(-ла) і не одержував(-ла) недозволеної допомоги під час підготовки цієї роботи. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Здобувач

(підпис)

Київ – 2024 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь магістр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Фармацевтична біотехнологія»

(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і

мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“ 01 ” листопада 2023 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

ВОВК Тетяна Андріївна

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Використання бактерій для біосинтезу наночасток срібла з антимікробною дією»

керівник роботи СКРОЦЬКА Оксана Ігорівна, к.б.н., доц.

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від 31 жовтня 2022 року № 780-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 03.02.2023

3. Вихідні дані до роботи Штам *Acinetobacter calcoaceticus* LRVP54; Безклітинний супернатант, 24 год, 70°C, 0.7 мМ нітрату срібла, 1,51 г наночастинок срібла на рік, для забезпечення лікування хвороб сечостатевої системи; вартість 1 л поживного середовища 6,8 грн.;

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) ВСТУП; РОЗДІЛ 1. Наночастинки срібла як засоби боротьби з патогенними мікроорганізмами; РОЗДІЛ 2. Техніко-економічне обґрунтування виробництва; РОЗДІЛ 3. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів; РОЗДІЛ 4. Підбір технологічного з врахуванням матеріальних потоків по стадіям; РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання; РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми процесів виділення та очищення наночастинок срібла; РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва субстанції РОЗДІЛ 8. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання лз; РОЗДІЛ 9. Специфікація обладнання при одержанні лікарського засобу; РОЗДІЛ 10. Опис технологічної схеми одержання лз; РОЗДІЛ 11. Опис лікарського засобу згідно АНД;

5. Перелік графічного матеріалу

Апаратурна схема 1 лист А1, Апаратурна схема 2 лист А1, Технологічна схема 1 лист А1, Технологічна схема 2 лист А1

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв

7. Дата видачі завдання 30 жовтня 2023 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	РОЗДІЛ 1. Наночастинки срібла як засоби боротьби з патогенними мікроорганізмами	01.11.2023 - 13.11.2023.	
2	РОЗДІЛ 2. Техніко-економічне обґрунтування виробництва	13.11.2023 - 16.11.2023.	
3	РОЗДІЛ 3. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів	16.11.2023 - 22.11.2023.	
4	РОЗДІЛ 4. Підбір технологічного з врахуванням матеріальних потоків по стадіям	22.11.2023 - 25.11.2023.	
5	РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання	25.11.2023 – 31.11.2023.	
6	РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми процесів виділення та очищення наночвстинок срібла	31.11.2023 - 04.12.2023.	
7	РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва субстанції	04.12.2023 – 09.12.2023	
8	РОЗДІЛ 8. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання лз	09.12.2023 – 11.12.2023.	
9	РОЗДІЛ 9. Специфікація обладнання при одержанні лікарського засобу	11.12.2023 – 15.12.2023.	
10	РОЗДІЛ 10. Опис технологічної схеми одержання лз	15.12.2023 - 23.12.2023.	
11	РОЗДІЛ 11. Опис лікарського засобу згідно АНД	23.12.2023 - 01.01.2024.	
12	Оформлення апаратурної та технологічної схеми	01.01.2024 - 10.01.2024.	
13	Оформлення вступу та реферату	10.01.2024 – 15.01.2024	

Здобувач _____
(підпис)

Тетяна ВОВК _____
(ім'я та прізвище)

Керівник роботи _____
(підпис)

Оксана СКРОЦЬКА _____
(ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Дипломна робота присвячена бактеріям здатним синтезувати наночастинки срібла. В даній роботі пропонується використання колоїдного розчину срібла у комплексі з антибіотиками для лікування хвороб сечостаттевої системи.

Лікування бактеріальних інфекцій стає все складніше у зв'язку з ростом стійкості бактерій до антибактеріальних засобів. Ця здатність бактерій адаптуватися та розвивати стійкість створює велику необхідність у створенні нових класів антибактеріальних препаратів.

Однією з перспективних областей є використання наночастинок срібла, що синтезуються самими бактеріями. Ці наночастинки відзначаються високою антимікробною активністю та мають широкий спектр дії щодо патогенних мікроорганізмів, таких як дріжджі, бактерії та гриби, здатні викликати різноманітні захворювання у людей.

Важливою перевагою використання наночастинок срібла є їхній потенціал у подоланні резистентності бактерій, оскільки їхній механізм впливу може відрізнитися від традиційних антибіотиків. Це відкриває нові можливості у розробці ефективних та інноваційних методів боротьби з бактеріальними інфекціями, допомагаючи зберегти ефективність лікування в умовах зростаючої стійкості бактерій до традиційних антибіотиків.

Робота складається зі вступу та 11 розділів. Обсяг сторінок даної праці – 101 сторінка друкованого тексту. Також, включено список використаної літератури з 111 найменувань. Робота містить 8 таблицю та 9 рисунків. Окрім того, в дипломній представлено графічну частину (технологічна та апаратурна схеми) з 4 аркушів формату А1.

Ключові слова: наночастинки, колоїдний розчин срібла, бактерії, антимікробна активність.

ABSTRACT

The thesis is devoted to bacteria capable of synthesizing silver nanoparticles. This work proposes the use of colloidal silver solution in combination with antibiotics for the treatment of diseases of the genitourinary system.

Treatment of bacterial infections is becoming more and more difficult due to the increasing resistance of bacteria to antibacterial agents. This ability of bacteria to adapt and develop resistance creates a great need to create new classes of antibacterial drugs.

One of the promising areas is the use of silver nanoparticles synthesized by the bacteria themselves. These nanoparticles are characterized by high antimicrobial activity and have a wide spectrum of activity against pathogenic microorganisms, such as yeast, bacteria and fungi, which can cause various diseases in humans.

An important advantage of using silver nanoparticles is their potential to overcome bacterial resistance, as their mechanism of action may differ from traditional antibiotics. This opens up new opportunities in the development of effective and innovative methods of combating bacterial infections, helping to maintain the effectiveness of treatment in conditions of growing resistance of bacteria to traditional antibiotics.

The work consists of an introduction and 11 chapters. The volume of pages of this work is 101 pages of printed text. Also, a list of used literature from 111 names is included. The work contains 8 tables and 9 figures. In addition, the diploma section presents the graphic part (technological and hardware diagrams) of 4 sheets of A1 format.

Key words: nanoparticles, colloidal silver solution, bacteria, antimicrobial activity.

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ.....	3
ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1. НАНОЧАСТИНКИ СРІБЛА ЯК ЗАСОБИ БОРОТЬБИ З ПАТОГЕННИМИ МІКРООРГАНІЗМАМИ	9
1.1. Біосинтез наночастинок срібла з використанням бактерій	14
1.1.1. Внутрішньоклітинний синтез	16
1.1.2. Позаклітинний синтез з використанням безклітинного екстракту та супернатанту культуральної рідини.....	17
1.2. Антимікробна дія біогенних наночастинок срібла	23
1.3. Механізми антимікробної дії наночастинок срібла	27
РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА	29
2.1. Аналіз фармакологічних властивостей, галузей використання та потреби ЛЗ.....	31
2.2. Обґрунтування вибору форми випуску лікарського засобу.....	33
2.2.1. Обґрунтування форми випуску лікарського засобу	35
2.2.2. Обґрунтування вибору первинної і вторинної упаковки ЛЗ.....	36
2.3. Обґрунтування вибору біологічного агенту	37
2.4. Розрахунок потреби у субстанції для випуску та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції.....	45
РОЗДІЛ 3. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ.....	46
РОЗДІЛ 4. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ	50
РОЗДІЛ 5. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	53
РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПРОЦЕСІВ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА.....	55
РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ	59

РОЗДІЛ 8. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ЛЗ.....	63
8.1. Розрахунок річної потужності виробництва та кількості серій на рік	63
8.2. Обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень, підготовки персоналу, дезинфікуючих засобів, вентиляційного повітря.....	65
8.3. Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки.....	66
8.4. Обґрунтування вибору підготовки води.....	67
8.5. Вибір технологічних стадій та операцій, обладнання.....	67
РОЗДІЛ 9. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ПРИ ОДЕРЖАННІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ.....	69
РОЗДІЛ 10. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ЛЗ.....	73
РОЗДІЛ 11. ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД.....	81
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	90

ВСТУП

У цей час практично в усіх сегментах людської праці, таких як сільське господарство, промисловість, електроніка, енергетика, хімія, біологія, медицина та фармація, виявляється пряма або опосередкована зв'язаність з наномасштабними об'єктами, що розроблені на базі нанотехнологій. Сфери наномедицини та нанофармакології стрімко розвиваються, і щороку з'являється велика кількість наукових публікацій, в яких описуються нові потенційні медичні засоби, зроблені з використанням нанотехнологій. Особливий інтерес представляють препарати, які містять у своєму складі наночастинки срібла (НЧС) (Ficai A, 2017).

Ag-NP показали виняткові властивості. Існує багато застосувань Ag-NP в біомедичних галузях. Розмір Ag-NP регулюється у залежності від кінцевої мети. Наприклад, Ag-NP, підготовлені для доставки ліків, мають розмір більше 100 нм. Крім того, Ag-NP широко використовуються в антимікробних застосуваннях, оскільки вони показали антимікробні властивості. Ці унікальні характеристики наночастинок срібла дозволили використовувати їх у галузях наномедицини, фармації, біосенсору та біомедичної інженерії (Qamer S, 2021).

					<i>НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>ВСТУП</i>	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Архивів</i>
<i>Розроб.</i>	<i>Вовк Т.А.</i>						6	101
<i>Перевір.</i>	<i>Скроцька О.І.</i>							
<i>Реценз.</i>								
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>				<i>Кафедра БТМ</i>			

РОЗДІЛ 1

НАНОЧАСТИНКИ СРІБЛА ЯК ЗАСОБИ БОРОТЬБИ З ПАТОГЕННИМИ МІКРООРГАНІЗМАМИ

З давніх часів срібло у всіх видах та формах використовується як антимікробний засіб. Використання срібла стало зменшуватись після винайдення пеніциліну в 1940-х роках. Але з виникненням бактерій, стійких до антибіотиків, клінічне використання срібла повторно стало актуальним (Ficai A, 2017).

AgNP описуються як наноматеріали в межах розміру від 1 до 100 нанометрів. Вони показали оптимальніше співвідношення площі до об'єму порівняно з сріблом у його звичайній формі. У наномаштабі даний матеріал демонструє неповторні каталітичні, електричні і оптичні характеристики, що вплинуло на дослідження, виробництво продуктів для цільової доставки ліків, діагностики, виявлення та візуалізації (Yaqoob AA, Ahmad H, 2020).

Унікальна антибактеріальна активність, яку продемонстрували AgNP, зосередила увагу дослідників до даного наноматеріалу. AgNP показали антимікробну активність для знищення різноманітних інфекційних і патогенних бактерій, серед яких є види із мультирезистентністю (Siddiqi KS, 2018).

Наразі доступна велика кількість сполук на основі срібла у різноманітних комплексах, включаючи піни, гідроволокна та гідроколоїди через підвищену небезпеку резистентності до антибіотиків та сильну стурбованість через токсичності місцевих антисептиків (Zou SB, 2013).

На основі наночастинок срібла створено системи доставки медикаментів, терапія раку та біоаналітична діагностика (Mukherjee, 2014).

Вченими доведено значну корисність наночастинок срібла, вони проявляють чудові антимікробні властивості проти смертоносних вірусів, мікробів та інших мікроорганізмів, які містять ядра. Дані наночастинок безперечно мають значне поширення у широкому спектрі різних галузей.

					<i>НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Вовк Т.А.</i>				<i>РОЗДІЛ 1 НАНОЧАСТИНКИ СРІБЛА ЯК ЗАСОБИ БОРОТЬБИ З ПАТОГЕННИМИ МІКРООРГАНІЗМАМИ</i>	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>	<i>Скороцька О.І.</i>						7	101
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>							

Додатково, наночастки срібла популярні як антимікробний засіб у різних галузях текстильної промисловості (Hasan, 2015). Крім того, наночастки срібла відіграють вагомую роль у фармацевтичній промисловості, оскільки вони функціонують як антибактеріальні агенти, які проявляють меншу токсичність. У промисловості застосовують частки срібла (чорнило для струменевих принтерів), які проявляють систематичну дисперсію, полегшують розробку різноманітних електронних схем (Yaqoob, 2020).

Застосування AgNPs у медицині та охороні здоров'я є дуже цінним через їхню підвищену антибактеріальну активність, яку забезпечує їхній нанорозмір. Дослідження показали можливість включення AgNPs багатьох продуктів, включаючи засоби для обробки харчових продуктів, одяг, косметику, хірургічні інструменти, стоматологічні матеріали, катетери та матеріали для перев'язки (Tran QH, 2015, Argueta Figueroa L, 2018, Ge L, 2014).

Одним із головних факторів, який показує AgNPs привабливою альтернативою антибіотикам, є їхній потенціал як мікробіологічно активної речовини. Вони демонструють різні механізми дії, водночас вражають мікроорганізми у кількох структурах, забезпечуючи їм здатність дієво протидіяти з різноманітними бактеріями.

Це відкриває широкі можливості для застосування AgNPs як заміни антибіотиків у боротьбі зі збудниками хвороб. Їхні антибактеріальні властивості дозволяють знайти шлях для подолання антибіотикорезистентності та забезпечити більш успішного контролю хвороб спричинених бактеріями. Крім того, AgNPs можуть використовуватись в профілактичних заходах, таких як знезараження медичних інструментів та матеріалів, з метою запобігання розповсюдження інфекцій та охорони громадського здоров'я (Cheng G, 2014)

У новітніх дослідженнях, які взаємопов'язані з розробленням сучасних видів антибіотиків, починають виникати надзвичайні труднощі. Цей надважкий процес вимагає багаторічного дослідження ефективності та безпечності препаратів, вони витрачають безліч ресурсів та час. Разом з тим, інфекції,

зумовлені мультирезистентними мікроорганізмами, надалі поширюються та безжалісно призводять до смерті у всьому світі. (Liliana Serwecińska, 2020).

Епоха сьогодення після антибіотиків стимулює дослідження AgNPs та інших наноматеріалів з метою відриття новітніх агентів, які продовжать боротися з хвороботворними мікроорганізмами, не впливаючи на появу нових форм резистентності. Беручи до уваги те, що інфекції, викликані мікроорганізмами, які мають стійкість до антибіотиків, представляють потенційну небезпеку для всього світу, AgNP представлені як ефективна альтернатива. Вони мають потенціал у застосуванні для запобігання інфекціям, викликаними даними мікроорганізмами, дезінфекції матеріалів медичного призначення і навіть боротьби з активними інфекційними захворюваннями. Використання AgNPs інколи розглядається як високоперспективний шлях реалізації новітніх стратегій у сучасну медицину та біологію для вирішення труднощів антибіотикорезистентності та захисту здоров'я пацієнтів (Betts J.W, 2018, Hasan, 2015).

Останні роки характеризувалися широким дослідженням використання AgNPs, як альтернативи антибіотикам із наміром виготовлення нових бактерицидних продуктів для дезінфекції та лікування інфекцій. При цьому використовуються переваги наявних знань про їхню високу ефективність, навіть щодо мікроорганізмів, які виявляють резистентність до антибіотиків (Lee N.Y, 2019).

Сучасне використання наночастинок активно розширюється в різноманітних галузях, таких як молекулярна біологія, фізика, органічна та неорганічна хімія, медицина та матеріалознавство. Нанорозмірні матеріали, на відміну від матеріалів із великими частинками, проявляють надзвичайні електричні, оптичні та магнітні властивості. Дані характеристики обумовлюють часте використання наночастинок у сферах електроніки, фотоніки, каталізу та фотокаталізу, а також у виробництві різноманітних плазмових пристроїв, наприклад, SERS-датчиків (Wojtysiak, 2012).

Дисперсні наночастинки застосовуються в нанобіомедицині як флуоресцентні біологічні мітки (Chan W, 2018), засоби доставки ліків і генів (Pantarotto, 2013; Cui D, 2017), а також у програмах, таких як біодетектування патогенів (R.L. Edelstein, 2020), тканинна інженерія (Hasan A, 2018; 16. Damle A, 2022), гіпертермічна деструкція пухлин (Liu S, 2023), МРТ-контрастування (Amendola V, 2021), а також фагокінетичні дослідження (Zewde B, 2016).

Наночастинки також широко використовуються в текстильній, гальванічній, паперовій, парфумерній та харчовій промисловостях. Бактерицидні властивості наночастинок застосовуються при виробництві антибактеріальних фільтрів для води та повітря, медичного обладнання та багатьох товарів побуту. Взаємодіючи з мембранами бактеріальних клітин, наночастинки проникають усередину цитоплазми, де ушкоджують сірко- і фосфоровмісні сполуки. Використання наночастинок також обіцяє великий потенціал у сферах екології та біомедицини (Burduşel AC, 2018).

Використання наночастинок розвивається в багатьох напрямках медицини: діагностування, профілактики та лікування різноманітних захворювань. Вони мають потенціал при синтезі медичних препаратів з контрольованим вивільненням ліків та адресною доставкою їх до патологічних клітин, тканин і органів. Використання наночастинок у лікарських засобах дозволяє зменшити дозу ліків, побічні ефекти та тривалість лікування (Patra, 2018).

Наночастинки діють на організм на молекулярному рівні, забезпечуючи високий ступінь специфічності. Це дозволяє впливати на конкретні клітини чи тканини, максимізуючи терапевтичний ефект та мінімізуючи побічні ефекти. Завдяки невеликому розміру, наночастинки можуть проникнути крізь бар'єри, які зазвичай перешкоджають доставці лікарських препаратів, покращуючи фармакокінетику та біорозподіл терапевтичних засобів. Це дозволяє мінімізувати токсичність (Waheed, 2022) і покращує розчинність гідрофобних сполук, роблячи їх придатними для парентерального введення. Наночастинки також збільшують стабільність різноманітних терапевтичних агентів, таких як пептиди та олігонуклеотиди (Yusuf A, 2023) Поєднання наночастинок металів з

антибіотиками дає синергетичний ефект у боротьбі з резистентними бактеріями. Кополімери, які формують міцели для інкапсуляції антибіотиків, дозволяють зберігати невеликі молекули і транспортувати їх до потрібного місця. Бактеріцидні властивості наночастинок знайшли застосування в якості покриття для медичних інструментів, пристроїв, імплантатів, катетерів та ін (Sahoo J, 2022.)

Унікальні властивості наночастинок роблять їх ефективними для розробки електрохімічних сенсорів і біосенсорів (Curulli A, 2020). Завдяки високій специфічній поверхні та розміру, наноматеріали можуть використовуватися як каталізатори, адсорбенти, мембрани та засоби для дезінфекції води, сприяючи подальшому розвитку екологічних технологій (Mbarek WB, 2022)

Велика увага, яка приділяється AgNP, проявляється у значних показниках попиту та вкладеннях у дослідження, пов'язані з цими наночастинками. За останні 15 років ринок AgNP неухильно зростає, а експертні оцінки свідчать про виробництво понад 500 тонн наночастинок щорічно, щоб задовольнити потреби різних галузей. Це свідчить про широке застосування AgNP і їх важливість у багатьох сферах, які охоплюють медицину, електроніку, косметику та багато інших галузей. Інтерес до досліджень забезпечує постійну еволюцію та розвиток цих наночастинок, що стимулює подальше зростання їх виробництва та використання (Yaqoob A.A., 2020).

У світлі постійного росту ринку наночастинок та широкої наявності продуктів з вбудованими наночастинками, виникає необхідність у дослідженні їх біологічної активності та безпеки. Дослідження цих аспектів стає важливим завданням, а також вимагає розкриття точних механізмів їх впливу на клітини бактерій та ссавців. Зростаюча кількість продуктів, які в своєму складі містять наночастки, змушує нас звернути увагу на можливі ефекти цих матеріалів на здоров'я та довкілля. Необхідно докладати зусиль для забезпечення високого рівня безпеки та розуміння впливу наночастинок на біологічні системи з метою раціонального та відповідального використання цих матеріалів у майбутньому. Ростуче занепокоєння щодо потенційного впливу AgNP на довкілля та організм людини змусило дослідників сконцентруватися на вивченні токсичності,

викликаній цими частинками, як у лабораторних умовах (*in vitro*), так і на живих організмах (*in vivo*) (Ferdous Z, 2020).

Враховуючи важливість безпеки для фізичного добробуту людини та довкілля, одним із ключових аспектів, які потрібно враховувати, є токсичність наночастинок. Розмір наночастинок, який є їхньою перевагою, також може стати фактором, що дозволяє їм проникати через захисні бар'єри в організмах і викликати потенційно шкідливі ефекти після накопичення (Bruna T, 2021). Суттєвою проблемою використання AgNP як антимікробних агентів є можлива цитотоксичність. Проте різноманітні дослідження описували різні рівні токсичності кількох AgNPs, отриманих різними методами (Mateo, 2022), від відсутності токсичності (Mussin J, 2021, Skóra B, 2021) до високої токсичності (Skanda S, 2022). Таким чином, нові підходи до синтезу AgNP, особливо при використанні різноманітних біологічних матеріалів, врешті-решт створять AgNP, які можна буде використовувати в клініці. Як стверджують деякі вчені, якщо AgNP демонструють антимікробну активність у нижчих концентраціях, ніж ті, в яких вони викликають значну токсичність, існує висока ймовірність їхнього використання як антибактеріального агента (Helmlinger, 2022).

1.1. Біосинтез наночастинок срібла з використанням бактерій

Наночастинок срібла (AgNP) синтезуються за допомогою різних біологічних, фізичних чи хімічних методів, що призводить до отримання різних форм і розмірів для застосування в різних аспектах. Ці методи синтезу можливо розподілити на дві ключові категорії: "зверху вниз" і "знизу вгору".

У методиці механізму "зверху вниз" розмір металевих срібла в масовій формі механічно зменшується до нанорозміру за допомогою методів, таких як літографія, лазерна абляція, механічне фрезерування та інші. Ці методи базуються на поступовому зменшенні розміру матеріалу до наномасштабу за допомогою різних технік обробки.

У висхідному підході "знизу вгору" (самозбірка) використовуються розчинення срібла у формі солей у відповідному розчиннику, відновлення іонів срібла до елементарного стану за допомогою відновлювача, а потім стабілізація

отриманих нейтральних наночастинок срібла за допомогою стабілізаторів, що запобігають їх агломерації.

Такі різні методи синтезу AgNP надають можливість контролювати їхні розміри та форми, що відкриває широкі перспективи для застосування у різноманітних сферах людської діяльності, включаючи медицину, електроніку, каталіз та інші.

Описано величезну кількість методів синтезу наночастинок срібла (AgNP), заснованих на хімічних, фізичних або біологічних підходах. Використання хімічних або фізичних методів зазвичай дає більш правильну форму та розмір окремих наночастинок, ніж біологічні методи (Lee SH, 2019, Ramya Vishwanath, 2021, Adesanmi, 2022). Однак їхнє використання, як протимікробних препаратів може бути нерелевантним у багатьох випадках. У біологічних методах використовуються екстракти або культуральні бульйони, що містять відновлювачі та захисні агенти, що утворюють наноматеріали срібла, активність яких залежить від методу та біологічного матеріалу, що використовується (Singh, 2016, Prasad, 2021, Нуq, 2022, Nadaf, 2022, Remya, 2022, Salnus, 2022). Оскільки токсичні хімікати не використовуються, а біологічний матеріал зазвичай не дорогий і не потребує складного обладнання, біологічні методи вважаються зручнішими та екологічнішими. У більшості з них використовуються екстракти різних частин рослин, таких як насіння, листя, квіти тощо (Akintelu, 2020), також використовується сироватка крові тварин (Kakakhel, 2021), безхребетних (Han, 2013), водорості (Jacob, 2021), лишайники (Rattan, 2021), також використовувалися гриби (Guilger-Casagrande, 2019) і бактерії (Han, 2013, Naganthran A., 2022, Tsekhmistrenko, 2020, Нуq, 2021). Різні організми можуть надавати наночастинкам різні фізико-хімічні характеристики та біологічні властивості.

Мікроорганізми є другим найбільш часто використовуваним джерелом для біогенного синтезу AgNP, особливо бактерій. У цих випадках були описані внутрішньоклітинні та позаклітинні методи, які використовують екстракти або культуральні бульйони широкого розмаїття бактерій, таких як *Paenarthrobacter*

nicotinovorans (Huq, 2021), *Klebsiella pneumoniae* (Saleh, 2020), різні види *Pseudomonas* (Quinteros MA, 2016, Hossain, 2019), актинобактерії (Otari, 2015), психрофільні бактерії (Javani, 2015) і навіть ендofітна *Bacillus cereus* (Mujaddidi, 2021) серед багатьох інших. Використання різних біологічних матеріалів збільшує можливість виробництва AgNP з різними властивостями. Хоча рослини найчастіше використовувалися для виробництва AgNP, мікроорганізми є набагато більш філогенетично різноманітними і вимагатимуть менше фізичного простору та часу для росту, ніж рослини для виробництва біологічного матеріалу в краще контрольованих і відтворюваних умовах росту. Таким чином, дослідження нових видів бактерій, здатних виробляти AgNPs, може бути хорошим підходом до отримання бактерій з різними властивостями, які потім дозволять нам вибрати найбільш підходящі для кожного застосування. Крім того, використовуючи різні середовища (Luo, 2018, Baltazar-Encarnación, 2019) для культивування одноманітних бактерій або культур з різних фаз росту може надати додаткові можливості для створення AgNP з різними властивостями (Pernas-Pleite C, 2022).

1.1.1. Внутрішньоклітинний синтез

Біогенний синтез наночастинок можна здійснити за допомогою таких організмів, як бактерії, гриби та рослини, або побічних продуктів їх метаболізму, які діють як відновники та стабілізатори. Ці наночастилки покриті біомолекулами, отриманими з організму, який використовується в синтезі, що може покращити стабільність і може бути біологічною активністю. Біогенний синтез є відносно простим, чистим, стійким і економічним, а також забезпечує більшу біосумісність у використанні наночастинок (Guilger-Casagrande, 2019).

Біосинтез срібних наночастинок за допомогою бактерій передбачає культивування організмів у відповідному середовищі з наступним контактом бактерій або їх метаболітів із розчином нітрату срібла (AgNO_3) (Singh, 2015).

AgNP, як правило, можуть вироблятися бактеріями за допомогою процесу біовідновлення, в якому відновлення AgNO_3 - попередника з іонів Ag^+ до Ag^0 з утворенням AgNP за допомогою нікотинамідаденіндинуклеотиду (NADH)-залежних ферментів (Langopati, 2020). Сінгх та ін. (Singh, 2018) синтезували

AgNP з використанням *Pseudomonas* sp. THG-LS1.4. Томас та ін. (Thomas R., 2014) синтезували AgNPs внутрішньоклітинно за допомогою *Ochrobactrum anthropi*. Однак спосіб позаклітинного біосинтезу був кращим через легке відновлення AgNPs.

Внутрішньоклітинне виробництво вимагає центрифугування з наступною серією ультразвукових циклів для руйнування клітин, що робить етап очищення більш складним. Внутрішньоклітинний синтез наночастинок включає транспортування іонів і молекул до бактеріальних клітин у присутності ферментів (Yang Y, 2022, Alamri 2018). Як наслідок, внутрішньоклітинний процес потребує додаткового часу для створення наночастинок, ніж позаклітинний механізм (Netala, 2018). Отже, під час внутрішньоклітинного синтезу спочатку клітини повинні бути повністю зібрані шляхом центрифугування та піддані декільком циклам ультразвукової обробки для руйнування клітин, що ускладнює етап очищення. (Singh, 2018).

1.1.2. Позаклітинний синтез з використанням безклітинного екстракту та супернатанту культуральної рідини

Генерацію НЧ Ag мікроорганізмами можна класифікувати як внутрішньоклітинний або позаклітинний біосинтез. Позаклітинний синтез є легшим і зрозумілішим, ніж внутрішньоклітинний, оскільки отримані наночастинок можна легко очистити та отримати (Wang, 2022, Singh, 2018).

Механізм позаклітинного синтезу наночастинок за допомогою мікробів не повністю відомий. Але вважається, що такі ферменти, як нітратредуктаза, що виділяються мікробами, допомагають у біовідновленні іонів металів до металевих наночастинок. Про це повідомлялося у дослідженні, де нітратредуктаза, що виділяється бактеріями, була виявлена відповідальною за відновлення Ag⁺ до наночастинок (Das, 2014).

Спостереження за позаклітинним синтезом було зроблено вченим у якому, позаклітинний синтез наночастинок був підтверджений візуальним спостереженням з появою зміни кольору в реакційній суміші. Колір супернатанту змінювався від жовтого до темно-коричневого протягом 48 годин, інтенсивність

кольору збільшувалася з періодом інкубації через зменшення Ag⁰. Контроль (без бактерій) не показав зміни кольору при інкубації протягом того ж періоду та умов. Зміна кольору від блідо-жовтого до темно-коричневого пояснюється поверхневим плазмонним резонансом. (Singh, 2016). У позаклітинному синтезі AgNP штамом *Sporosarcina koreensis* DC4 шляхом позаклітинного процесу.

Точний механізм синтезу AgNPs бактеріями до кінця не вивчений. Однак звіти вказують, як зазвичай утворюються наночастинки: іони металів спочатку захоплюються на поверхні або всередині мікробної клітини. Захоплені іони металу потім відновлюються до наночастинок у присутності ферментів (Singh, 2015).

У ще одному дослідженні AgNP були успішно синтезовані в супернатанті культури *Kinneretia THG-SQI4*. Позаклітинний синтез AgNP з використанням надосадової рідини досліджували шляхом спостереження за зміною кольору експериментальних зразків у присутності 1 mM AgNO₃. Після 48 годин інкубації відбулася зміна кольору бактеріального супернатанту з блідо-жовтого на коричневий. Коричнє забарвлення було зумовлене утворенням AgNPs, оскільки AgNP викликають поверхневий плазмонний резонанс. Позитивний результат спостерігався утворенням коричневого кольору. У той же час експериментальний контроль без бактерій не показав зміни кольору. Методологія синтезу наночастинок була легкою та економічно ефективною (Singh, 2016).

У дослідженні групи вчених було показано біологічний синтез AgNP з безклітинних водних екстрактів *Spirulina platensis*. Ці екстракти при взаємодії з розчином солі нітрату срібла утворюють темно-коричневий розчин через відновлення іонів срібла до AgNP з наступною зміною кольору, що вказує на біотрансформацію іонного срібла у відновлене срібло та подальше утворення AgNP у водному середовищі. Ця реакція призводить до біосинтезу AgNPs, що проявляється зміною кольору на темно-коричневий зі світло-жовтого, що спостерігається під час початку реакції (Gaurav Sharma, 2015).

Серед двох методів синтезу - позаклітинного та внутрішньоклітинного - позаклітинний синтез виділяється своєю зручністю та простотою. Особливою

перевагою цього методу є легкість очищення синтезованих наночастинок. На відміну від внутрішньоклітинного синтезу, де синтезовані матеріали залишаються усередині клітини та можуть потребувати складних процедур для їх виділення, позаклітинний синтез надає можливість легко та швидко очистити наночастинок від забруднень та небажаних домішок. Це робить позаклітинний синтез привабливим вибором для дослідників і промислових лабораторій, що займаються виготовленням наноматеріалів (Singh, 2018).

Узагальнена характеристика використання бактерій для біосинтезу наночастинок срібла наведена в таблиці 1.1.

Таблиця 1.1

Використання бактерій для біосинтезу наночастинок срібла

Штам бактерій / джерело виділення	Джерела вуглецю і азоту у складі ПС для культивування, г/л	Параметри культивування бактерій, год	Параметри біосинтезу наночастинок срібла	Спектроскопічне дослідження наночастинок срібла		Джерело
				Діапазон довжин піку поглинання, нм	Максимальний пік поглинання, нм	
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> LRVP54	Пептон –10 г/л, Дріжджовий екстракт –5 г/л, Хлорид натрію –5 г/л.	Культуру вирощували при 30°C/200 об/хв протягом 24 годин	Безклітинний супернатант, 24 год, 70°C, 0.7 мМ нітрату срібла, статичні умови,	300-800	440	Singh R., Wagh P., Wadhvani S., Gaidhani S., Ivumbhar A., Bellare J., Chopade B. A. Synthesis, optimization, and characterization of silver nanoparticles from <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> and their enhanced antibacterial activity when combined with antibiotics, <i>Int. J. Nanomedicine</i> . 2013, 8: 4277—90. doi: 10.2147/IJN.S48913
<i>S. aureus</i> ATCC 6538p	Пептон –10 г/л, Дріжджовий екстракт –5 г/л, Хлорид натрію –5 г/л.	Культуру вирощували: рН 7,5, 35 °C і 150 об/хв у шейкерному інкубаторі протягом 24 год	Культуральна рідина, 10 мл нітрату срібла 2 мМ. рН культур доводили до 8, і при 35 °C і 150 об/хв протягом наступних 24 годин + 4 год після зміни кольору культур	350-600	408	Rezvani Amin Z, Khashyarmansh Z, Fazly Bazzaz BS, Sabeti Noghabi Z. Does Biosynthetic Silver Nanoparticles Are More Stable With Lower Toxicity than Their Synthetic Counterparts? <i>Iran J Pharm Res</i> . 2019 Winter;18(1):210-221. PMID: 31089356; PMCID: PMC6487435

Продовження табл. 1.1

<p><i>Bacillus subtilis</i> SDUM301120</p>	<p>Глюкоза – 20 г/л, Глутамінова кислота – 5 г/л, KH₂PO₄ – 1 г/л, MgSO₄·7H₂O – 0,5 г/л, KCl – 0,5 г/л, Дріжджовий екстракт – 1 г/л, MnSO₄·5H₂O – 0,005 г/л, CuSO₄·5H₂O – 0,00016 г/л, FeSO₄·7H₂O – 0,00015 г/л, L-фенілаланін – 0,002 г/л,</p>	<p>36 год при 37°C, pH 7,5 при 120 об/хв</p>	<p>Безклітинний супернатант, 7 мл 5 мМ нітрату срібла, 35°C, 1000 об/хв, 12 год</p>	<p>220–800</p>	<p>450</p>	<p>Xiuxia Yu, Junyu Li, Dashuai Mu, Hui Zhang, Qiaoxi Liu & Guanjun Chen (2021) Green synthesis and characterizations of silver nanoparticles with enhanced antibacterial properties by secondary metabolites of <i>Bacillus subtilis</i> (SDUM301120), <i>Green Chemistry Letters and Reviews</i>, 14:2, 190-203, DOI: 10.1080/17518253.2021.1894244</p>
<p><i>Isoptericola sp. SYSU 333150</i></p>	<p>Дріжджовий екстракт –4 г/л, Солодовий екстракт –10 г/л, Декстроза –4 г/л</p>	<p>Культуру вирощували 24 години при 180 об/хв і 37°C.</p>	<p>Безклітинний супернатант, 22°C, 0,0666667 год із світлом, 0,002 М нітрату срібла,</p>	<p>350-600</p>	<p>450</p>	<p>Dong Z. Y., Narsing Rao M. P., Xiao M., Wang H. F., Hozzein W. N., Chen W., Li W. J. Antibacterial activity of silver nanoparticles against <i>Staphylococcus wamari</i> synthesized using endophytic bacteria by photo-irradiation. <i>Front. Microbiol.</i> 2017, 8: 1090. doi: 10.3389/fmicb. 2017.01090.</p>

Закінчення табл. 1.1

<i>Rhodococcus sp. NCIM2891</i>	Na ₂ HPO ₄ – 24 г/л, KH ₂ PO ₄ – 12 г/л, NH ₄ Cl – 4 г/л, CH ₃ COONa- 5 г/л	pH 7, 130 об/хв, 24 години при 24-25 ° C	Культуральна рідина, 22°C, 130 об/хв, 3 мМ нітрату срібла, 18 год	300-600	420	Otari S. V., Patil R. M., Nadaf N. H., Ghosh S. J., Pawar S. H. Green biosynthesis of silver nanoparticles from an actinobacteria <i>Rhodococcus sp.</i> Mater. Lett. 2012, 72: 92—94. doi: 10.1016/j.matlet.2011.12.109.
<i>Pilimelia sp. SL19</i>	Дріжджовий екстракт –4 г/л, Солодовий екстракт –10 г/л, Декстроза –4 г/л	Культуру вирощували в контрольованих умовах. в орбітальному шейкері (120 об/хв) протягом одного тижня при 27 °C, pH 5,5.	Супернатант об'єднували з нітратом срібла 1 мМ та інкубували протягом 3 днів при 27°C у темряві.	200-800	421	Xiuxia Yu, Junyu Li, Dashuai Mu, Hui Zhang, Qiaoxi Liu & Guanjun Chen (2021) Green synthesis and characterizations of silver nanoparticles with enhanced antibacterial properties by secondary metabolites of <i>Bacillus subtilis</i> (SDUM301120), Green Chemistry Letters and Reviews, 14:2, 190-203, DOI: 10.1080/17518253.2021.1894244

1.2. Антимікробна дія біогенних наночастинок срібла

В даний час дослідження, пов'язані з розробкою нових антибіотиків, є складним процесом; вони вимагають років вивчення ефективності та безпеки агентів, споживаючи багато часу та ресурсів, у той час як інфекції, спричинені мультирезистентними мікроорганізмами, продовжують розвиватися та спричиняти смерть у всьому світі. AgNPs, разом з іншими наноматеріалами, були вивчені в визначену пост-антибіотичну еру для пошуку нових агентів, які можуть допомогти боротися з патогенними мікроорганізмами, не сприяючи появі нових резистентності. Оскільки інфекції, викликані стійкими до антибіотиків мікроорганізмами, викликають глобальне занепокоєння, AgNP постають як чудова альтернатива, оскільки їх можна застосовувати для запобігання інфекціям, викликаним цими мікроорганізмами, знезараження медичних матеріалів і навіть боротьби з хворобами викликаними інфекціями. Як альтернатива антибіотику, це застосування наночастинок срібла широко вивчалось в останні роки із ціллю створення нових бактерицидних продуктів для попередження або лікування інфекцій (Bruna,2021).

Наночастки срібла проявляють інгібуючу активність стосовно різноманітного асортименту мікроорганізмів, таких як родини *Arenaviridae*, *Herpesviridae*, *Paramyxoviridae*, *Retroviridae*, *Poxviridae*, *Orthomyxoviridae*. Крім того, відомо, що віруси розвивають стійкість до наносрібла повільніше, ніж до інших антивірусних препаратів.

Перед винайденням антибіотиків часто срібло використовувалося як антисептик для обробки ран і опіків. Зараз, внаслідок прогресу в галузі нанотехнологій, сполуки даного металу знову повертаються до медичної сфери як нові високоефективні антибактеріальні засоби. Наноматеріали відрізняються вищою реактивністю у порівнянні з аналогічними структурами із іншими розмірами, завдяки унікальним фізико-хімічним властивостям цього класу сполук і високому відношенню площі вільної поверхні до об'єму

матеріалу. Дане явище нанорозмірності закладено в фундаменті виняткової біоактивності металевих наноструктур, зокрема срібла.

Наночастинки срібла ефективно пригнічують репродукцію вірусів грипу та герпесу *in vitro* та *in vivo*. Найбільшу ефективність наночастинки срібла проявили в рамках експериментальної моделі грипозної інфекції *in vitro* та *in vivo*. Механізм дії міді зі сріблом відбувається за рахунок блокування синтезу рибонуклеїнової кислоти вірусів. Показники антивірусної дії (цитотоксичність, ефективна доза та індекс селективності) для всіх експериментальних вірусних інфекцій – грипу та герпесу - однакові, що означає їх ефективність на цих моделях вірусів та однаковий механізм антивірусної дії наноміді та наносрібла (Чекман, 2015)

Антимікробна ефективність AgNP має більшу перевагу у боротьбі з грамнегативними бактеріями порівняно з грампозитивними. Це має відношення до того, що у грамнегативних бактерій знаходиться товстий шар ліпополісахаридів (LPS) у клітинній стінці та маленький пласт пептидоглікану, тоді як у грампозитивних бактерій спостерігається тонкий шар LPS і товстий шар пептидоглікану. При наявності товстого шару пептидоглікану у клітинній стінці може зменшитися ймовірність проникнення частинок срібла (AgNP) у клітини (More, 2023).

Антибактеріальна активність AgNP *in vitro* показала потенційну антибактеріальну властивість проти стійких до множинних препаратів патогенів, таких як *Salmonella typhi* та *Staphylococcus aureus*. Біосинтезовані AgNP мають потенціал як антимікробні засоби для ефективного лікування захворювань (Saravanan, 2018).

Антимікробний вплив біогенно синтезованих срібних наночастинок став об'єктом зростаючого інтересу. Оскільки антимікробна активність наночастинок високо залежить від їхнього розміру та поверхні, повна і належна характеристика наночастинок є дуже вагомою. Під час перегляду літератури виявлено плутанину у характеристиці срібних наночастинок, що впливає на висновки щодо їхньої антимікробної активності. Було складно

знайти взаємов'язок поміж біогенних наночастинок різного розміру та їхньою антимікробною активністю через застосування різних технік для характеристики. Крім того, антимікробну активність цих наночастинок аналізують за допомогою різних протоколів та штамів, що ускладнює порівняння між опублікованими статтями (Durán, 2016).

Штами бактерій, що були використані для біосинтезу наночасточок срібла, та мінімальні інгібуючі концентрації наночастинок срібла представлені в *таблиці 1.2*.

Проаналізовані дослідження підтверджують, те як наночастки синтезовані бактеріями володіють досить великим діапазоном антимікробної активності щодо патогенних мікроорганізмів. Це дає підґрунтя для формування подальших досліджень із завданням створення нових медичних препаратів проти бактерій, таких необхідних в час значного збільшення стійкості у хвороботворних мікроорганізмів до вже існуючих препаратів.

Таблиця 1.2

Антимікробна дія наночастинок срібла, синтезованих з використанням бактерій

Штам бактерій, що були використані для біосинтезу наночастинок срібла	Тест-культура	Зона затримки росту, мм	Мінімальна інгібуюча концентрація, мкг/мл	Джерело
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> LRVP54	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	14	1024 мкг/диск	Singh R., Wagh P., Wadhvani S., Gaidhani S., Ivumbhar A., Bellare J., Chopade B. A. Synthesis, optimization, and characterization of silver nanoparticles from <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> and their enhanced antibacterial activity when combined with antibiotics, <i>Int. J. Nanomedicine</i> . 2013, 8: 4277—90. doi: 10.2147/IJN.S48913
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538p	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	12 ± 1	200 мкг/мл	Rezvani Amin Z, Khashyarmansh Z, Fazly Bazzaz BS, Sabeti Noghabi Z. Does Biosynthetic Silver Nanoparticles Are More Stable With Lower Toxicity than Their Synthetic Counterparts <i>Iran J Pharm Res</i> . 2019 Winter;18(1):210-221. PMID: 31089356; PMCID: PMC6487435.
<i>Bacillus subtilis</i> SDUM301120	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	14	150 мкг/мл	Xiuxia Yu, Junyu Li, Dashuai Mu, Hui Zhang, Qiaoxi Liu & GuanJun Chen (2021) Green synthesis and characterizations of silver nanoparticles with enhanced antibacterial properties by secondary metabolites of <i>Bacillus subtilis</i> (SDUM301120), <i>Green Chemistry Letters and Reviews</i> , 14:2, 190-203, DOI: 10.1080/17518253.2021.1894244

1.3. Механізм антимікробної дії наночастинок срібла

Срібло має позитивний заряд і тому схильне реагувати з негативно зарядженими біомолекулами, такими як фосфор і сірка, котрі є ключовими компонентами клітинної мембрани, білків і основ ДНК. Наночастишки срібла пошкоджують клітинну стінку та мембрану бактеріальних клітин, викликаючи різні морфологічні зміни (Hamouda, 2019). Кілька досліджень показали ефективне використання наночастинок срібла проти грампозитивних і грамнегативних збудників (Mukundan, 2017). Критичними характеристиками наночастинок є розмір, який повинен бути в області 1–100 нм, і вони також мають чудове співвідношення об'єму поверхні та форми наночастинок. Усі ці фактори відіграють важливу роль (Zaidi, 2017). Розміри відіграють значущу роль у здатності боротися з бактеріями. Різноманітні дослідження показують, що чим менший розмір наночастишки, тим більшою є здатність проникати в бактерії (Loo, 2018; Bruna, 2021; Yin, 2020; Kalwar, 2018).

Точна причина антимікробної дії AgNP на бактерії ще не з'ясована. Можливий механізм дії AgNP, за допомогою якого він забезпечує антимікробну активність може бути, те що іони срібла постійно вивільняються з наночастинок срібла, що може розглядатися як механізм знищення мікробів. Іони срібла можуть легко прилипати до стінки клітин та цитоплазматичної мембрани, оскільки вони тісніше пов'язані з білками сірки, а також завдяки електростатичному тяжінню (Liu, 2021; Shaikh, 2019; Wahab, 2021; Mendes, 2022; Anees Ahmad, 2020; Xu L, 2020; Jin, 2023)

У той же час оболонка бактерії порушується, оскільки коли іони срібла прикріплюються до клітинної стінки або цитоплазматичної мембрани, це підвищує проникність клітини і в кінцевому підсумку призводить до руйнування клітини. Коли вільні іони срібла поглинаються клітинами, вони дезактивують дихальні ферменти, утворюючи активні форми кисню, що перериває виробництво аденозинтрифосфату. АФК є основним видом, який провокує активність модифікації ДНК і руйнування клітинної мембрани. У ДНК сірка і фосфат є важливими компонентами. Тим не менш, взаємодія AgNP

з сіркою і фосфором в ДНК може викликати труднощі в реплікації ДНК і відтворенні клітин або навіть призвести до припинення бактерій. Іноді відбувається денатурація рибосоми в цитоплазмі, оскільки іони срібла можуть пригнічувати синтез білка (Dakal TC, 2016; Arif, 2021).

РОЗДІЛ 2

ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА

Система сечовиділення є найважливішою системою органів, яка відповідає за виведення сечі та підтримання гомеостазу шляхом регулювання об'єму крові, тиску, рівня рН, метаболітів та електролітів. Інфекції будь-якої частини сечовивідної системи призводять до розвитку інфекцій сечовивідних шляхів (ІМП). ІМП вважаються одними з найпоширеніших інфекцій, спричинених бактеріями, щороку вражають 150 мільйонів людей у всьому світі (Qindeel)

Протягом періоду від 1991 до 2017 року за результатами аналізу стану здоров'я в Україні виявлено збільшення захворюваності на хвороби сечостатевої системи на 58,8%, зростання випадків з 2559,9 на 100 тис. населення до 4064,0 на 100 тис. За цей період виявлено, що динаміка поширеності цих захворювань свідчить про вражаючий темп зростання, збільшившись з 4948,6 випадків на 100 тис. населення до 9265,7 випадків на 100 тис. населення, що становить 87,2%. Особливу тривожність спричиняє зростання захворюваності на захворювання сечостатевої системи у дітей, яке подвоїлося між 1991 і 2017 роками, підвищивши поширеність на 83,2%. Дослідження вікових особливостей виникнення захворювань сечостатевої системи показують, що найвищий рівень захворюваності у підлітків – 5478,8 випадків на 100 тис. підлітків у 2017 році, у відповідній віковій групі дорослого населення – 4415,6 випадків на 100 тис. населення. У 1958 р. 1 випадок на 100 тис. дітей. (Дячук, 2019)

З урахуванням того, що кількість осіб, які страждають від захворювань сечостатевої системи, складає 9265,7 на 100 тисяч населення, а за інформацією від Фонду народонаселення ООН, кількість населення в Україні на 2023 рік становить 36,7 мільйона осіб, загальна кількість таких хворих може досягти 3,4

мільйона осіб. Якщо врахувати 2% цього числа в контексті загального ринку, отримаємо приблизно 68 000 осіб.

НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ

Зм.	Тема	Об'єм	Тіп	Дата			
Розроб.	Вовк Т.А.				РОЗДІЛ 2 ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА		
Перевір.	Скороцька О.І.						
Реценз.							
Н. Контр.							
Затверд.	Стабніков В.П.						
					Літ.	Арк.	Архувів
						27	101
					<i>Кафедра БТМ</i>		

Курс лікування інфекцій складається із вживанням антибіотиків і колоїдного срібла для кращої ефективності лікування протягом 7 днів. Одним із типових препаратів колоїдного срібла є, природний антибактеріальний препарат широкого спектру дії Сільвер-макс у інструкції цього препарату вказано, що препарат потрібно приймати по 1 чайній ложці, яка містить 5 мл 2 рази на день із концентрацією наночастинок срібла 10 мкг/мл.

Курс лікування становить 7 днів ($10 \times 5 \times 2 \times 7 = 700$ мкг = 0.0007 грам). Отже, необхідно виробляти таку кількість субстанції:

$$G = 68000 \times 700 = 47\,600\,000 \text{ мкг} \approx 48 \text{ г наночасток срібла}$$

Для подальших розрахунків необхідно врахувати наступні дані:

1) Для біогенного синтезу використовують безклітинний водний екстракт *Acinetobacter calcoaceticus* (Singh, 2013). Приймаємо, що при обробці 1 літра культуральної рідини можливо отримати- 950 мл безклітинного водного екстракту.

2) Для біогенного синтезу наночасток срібла використовують 0,7 мМ нітрат срібла (Singh, 2013). Розрахуємо необхідну кількість нітрату срібла (AgNO_3) необхідну для приготування 0,7 мМ розчину. Нітрат срібла має молярну масу- 169,87 г/моль.

$$169,87 \frac{\text{г}}{\text{моль}} - 1 \text{ М розчин}$$

$$x \text{ грам} - 0,0007 \text{ М розчин}$$

$$x = 0,1189 \text{ грам}$$

Отже, для приготування 0,7 мМ розчину AgNO_3 необхідно взяти 0, 1189 грам нітрату срібла на 1 літр розчину.

Розрахуємо склад реакційної суміші для отримання 48 г наночастинок срібла. Прийmemo, що відновлення іонів срібла буде відбуватись повністю. Розрахуємо кількість срібла, що міститься у 0,1189 грамах нітрату срібла: у 169, 87 г AgNO_3 міститься 107, 8682 г Ag, тоді:

$$169,87 \text{ г AgNO}_3 - 107,8682 \text{ г Ag}$$

$$0,1189 \text{ г AgNO}_3 - x \text{ г Ag}$$

$$x = 0,0755 \text{ г Ag}$$

Отже при приготуванні 0,7 мМ розчину нітрату срібла у нас міститиметься 0,0755 г іонів срібла. Оскільки ми прийняли, що срібло повністю відновлюється, то матимемо таку ж кількість наночастинок у розчині, тобто 0,0755 г. Тобто таку кількість ми можемо отримати з 1 літра безклітинного водного екстракту *Acinetobacter calcoaceticus* (Singh, 2013). Тепер маємо розрахувати кількість безклітинного водного екстракту *Acinetobacter calcoaceticus* для отримання 48 г наночастинок срібла:

$$1 \text{ л безклітинного водного екстракту} - 0,0755 \text{ г наночастинок}$$

$$x \text{ безклітинного водного екстракту} - 48 \text{ г наночастинок}$$

$$x = 636 \text{ л безклітинного водного екстракту}$$

Враховуючи, що для отримання безклітинного водного екстракту ми до біомаси клітин вносимо той об'єм води, який дорівнює об'єму культуральної рідини, то нам потрібно 636 л культуральної рідини. Враховуючи, що сумарні втрати при виділенні та очищенні наночастинок становитимуть 45 %, то нам необхідно отримувати

$$V_{\text{кр}} = 922,2 \text{ л культуральної рідини}$$

Отже, для отримання 48 грам наночастинок срібла з урахуванням 45 % втрат при виділенні та очищенні, нам необхідно 922,2 л культуральної рідини.

2.1. Аналіз фармакологічних властивостей, галузей використання та потреби ЛЗ

Антимікробні властивості срібла, які були експериментально підтверджені ще у ХІХ столітті, в наш час дуже часто використовуються у різноманітних аспектах людського життя. Даний метал використовується у якості консерванту у різних технологічних процесах виготовлення напоїв та їжі. Срібло також входить до складу товарів повсякденного вжитку, таких як

шкарпетки, білизна, дезодоранти, гребінці, фарби, фільтри для води та предмети медичного догляду, такі як бинти та пластирі.

Маючи мету підвищувати ефективність прання, срібло наносять на стінки барабанів пральних машин. Антимікробна дія срібла широко використовується в медицині, де воно знаходить застосування в різних лікарських засобах.

Хоча при впровадженні антибіотиків і сульфаніламідів цікавість до препаратів, які містять срібло, трошки відступив, проте постійний ріст утруднення, що виникають у зв'язку з застосуванням хіміотерапевтичних засобів, а також розвиток антибіотикорезистентних мікроорганізмів, призвели до знову виявленого інтересу до розроблення новітніх протимікробних препаратів, зокрема, тих, які базуються на наноматеріалах із сріблом.

Цей інтерес до срібла обґрунтовується не лише його неймовірною антимікробною активністю проти різноманітних патогенних мікроорганізмів, але також повільним розвитком резистентності мікроорганізмів до цього металу. Ця характеристика робить срібло більш перспективним у порівнянні із різноманітними новітніми хіміотерапевтичними засобами, які використовуються у лікувально-профілактичних цілях. Актуальні напрями досліджень включають розробку інноваційних методів отримання стабільних наночастинок срібла, які можуть бути використані для створення нових антимікробних препаратів.

2.2 Обґрунтування вибору форми випуску лікарського засобу

Вибір форми випуску лікарського засобу є важливим кроком у фармацевтичній розробці та охороні здоров'я, і має суттєвий вплив на результати лікування. Це рішення має багато аспектів, які необхідно ретельно розглянути [99, 100,101].

Індивідуальні потреби пацієнта: Різні пацієнти мають різні уподобання і можуть мати різні вимоги щодо форми прийому ліків. Деякі можуть віддавати перевагу таблеткам, що приймаються один раз на добу, тоді як іншим буде зручніше використовувати мазі або робити ін'єкції. Вибір правильної форми

випуску може покращити дотримання режиму лікування пацієнтами і сприяти правильному використанню препарату.

Фармакокінетика: Форма випуску лікарського засобу впливає на те, як швидко і як ефективно препарат вбирається, розподіляється, метаболізується і виводиться з організму (фармакокінетика). Різні форми, такі як препарати з негайним вивільненням, пролонгованим вивільненням і інші, можуть мати різний вплив на концентрацію препарату в крові, що важливо для ефективності і безпеки лікування.

Терапевтична ефективність: Вибір форми випуску може безпосередньо впливати на ефективність лікування. Деякі препарати можуть потребувати постійного і тривалого вивільнення для забезпечення постійного терапевтичного ефекту, тоді як інші можуть вимагати швидкого вивільнення для лікування гострих станів. Неправильний вибір форми може призвести до непоцілених результатів лікування.

Біодоступність: Біодоступність, тобто частина введеної дози, яка досягає системного кровообігу, може суттєво варіювати в залежності від форми випуску. Важливо обирати форму, яка максимізує біодоступність, щоб досягти бажаного терапевтичного ефекту.

Стабільність препарату: Деякі препарати можуть бути нестабільними і розкладатися під впливом небажаних умов, таких як вологість або тепло. Вибір відповідної форми випуску може допомогти забезпечити стабільність препарату протягом його терміну придатності.

Отже, вибір форми випуску лікарського засобу є критичним рішенням, яке впливає на дотримання режиму лікування пацієнтами, ефективність терапії, безпеку та загальний успіх фармацевтичного продукту. Фармацевтичні компанії повинні ретельно враховувати властивості препарату, потреби цільової аудиторії і мету лікування, щоб зробити оптимальний вибір та забезпечити максимальну користь та безпеку при використанні препарату.

2.2.1 Обґрунтування форми випуску лікарського засобу

Рідкі лікарські форми (РЛФ) представляють собою лікарські препарати, які створюються шляхом змішування або розчинення лікарських речовин у розчиннику. Крім того, деякі РЛФ отримують шляхом видобутку діючих речовин з рослинного матеріалу.

Рідкі лікарські засоби для орального та зовнішнього застосування (РЛЗ), включають розчини, емульсії та суспензії, які містять одну або кілька діючих речовин, розчинених у відповідному розчиннику. Деякі РЛЗ складаються лише з рідких діючих речовин. Ці лікарські засоби можуть вживатися внутрішньо у нерозведеному вигляді або після розведення, відповідно до рекомендацій.

З фізико-хімічного погляду, РЛФ представляють собою вільні, високодисперсні системи, де лікарська речовина (яка може бути твердою, рідкою або газоподібною) однорідно розподілена у рідкому дисперсному середовищі (розчиннику).

Рідкі лікарські форми (РЛФ) становлять більше 60% всіх екстемпоральних лікарських препаратів у аптечних закладах. Існує кілька переваг РЛФ порівняно з іншими лікарськими формами:

Оптимальна дисперсність: РЛФ забезпечують оптимальний рівень дисперсності частинок лікарської речовини, що розчинена або рівномірно розподілена у розчиннику. Це суттєво впливає на терапевтичну ефективність лікарської речовини.

Різноманітність: РЛФ мають різноманітність складу і методів застосування, що робить їх вибором для різних терапевтичних потреб.

Подразнююча дія: РЛФ можуть зменшити подразнюючу дію деяких лікарських речовин, таких як броміди та йодиди.

Простота та зручність: РЛФ мають простий та зручний спосіб застосування, що полегшує прийом лікарського засобу.

Маскування смаку і запаху: РЛФ можуть приховати неприємний смак і запах лікарських речовин, що особливо важливо, особливо в дитячій практиці.

Швидка дія: При пероральному застосуванні РЛФ можуть всмоктуватися та виявляти свою дію швидше, ніж тверді лікарські форми, такі як порошки та таблетки.

М'яка і обволікаюча дія: Деякі лікарські речовини проявляють м'яку та обволікаючу дію у вигляді РЛФ, що може бути особливо корисним для певних пацієнтів.

Таким чином, РЛФ володіють численними перевагами, які роблять їх важливою лікарською формою для багатьох медичних ситуацій та пацієнтів [102, 103, 104].

Колоїдний розчин срібла - це особлива рідка лікарська форма, яка містить наночастинки срібла розподілені в розчиннику, зазвичай воді. Ось деякі характеристики цієї лікарської форми:

Наночастинки срібла: У колоїдному розчині срібла, наночастинки срібла мають дуже маленький розмір, зазвичай в діапазоні від 1 до 100 нанометрів. Ця мікроскопічна розмірність частинок дозволяє їм рівномірно розподілятися в розчині.

Стабільність: Колоїдні розчини срібла зазвичай є стабільними, оскільки наночастинки срібла утворюють двійний електричний шар навколо себе, що утримує їх в диспергованому стані. Це перешкоджає їх осіданню або агрегації.

Антисептичні властивості: Колоїдний срібний розчин володіє сильними антисептичними властивостями і може бути використаний для дезінфекції шкіри, ран і інших об'єктів.

Побічні ефекти: Існує деяка область дебатів та досліджень стосовно можливих побічних ефектів використання колоїдних срібних розчинів. Необхідно дотримуватися рекомендацій та дозування при застосуванні.

Використання: Колоїдні розчини срібла можуть бути використані для лікування різних станів, включаючи інфекції шкіри, запальні процеси,

антисептику для очищення ран і порізів, а також для інших медичних і косметичних цілей.

Дозування: Колоїдні розчини зазвичай легко дозуються, оскільки наночастинки рівномірно розподілені у розчині. Це сприяє точному визначенню дози для конкретного застосування.

Збереження: Для збереження стабільності колоїдного розчину срібла важливо уникати впливу світла, температурних змін та замерзання. Зазвичай такі розчини зберігаються в темному і прохолодному місці.

Загальною перевагою колоїдного срібла є його антисептичні властивості та здатність дезінфікувати шкіру і рани.

2.2.2 Обґрунтування вибору первинної і вторинної упаковки ЛЗ

Повідомлення про лікарський засіб на первинній та вторинній упаковці має включати наступні обов'язкові елементи, які надаються і підтверджуються шляхом контролю якості:

На первинну упаковку:

Назва лікарського засобу: Ідентифікація ЛЗ.

Об'єм, концентрація, маса чи кількість одиниць дії ЛЗ: Визначення точної кількості лікарської речовини у дозі.

Номер серії лікарського засобу: Унікальний номер для ідентифікації конкретної серії виробництва.

Дата закінчення терміну придатності: Інформація про термін, до якого лікарський засіб залишається придатним для використання.

Найменування виробника та, за необхідності, адреса заявника: Інформація про основного виробника та, якщо є, заявника лікарського засобу.

На вторинну упаковку:

Назва лікарського засобу: Повторна ідентифікація лікарського засобу.

Інформація щодо штрих-коду лікарського засобу: Штрих-код для облегшення ідентифікації та відстеження товарів.

Діючі речовини: Перелік діючих речовин у лікарському засобі, їх якісна та кількісна інформація.

Лікарська форма: Вказання на форму лікарського засобу (наприклад, розчин, таблетки) та масу, об'єм або кількість одиниць дозування в упаковці.

Перелік допоміжних речовин: Інформація про допоміжні речовини, які містяться в препараті.

Спосіб та шлях введення лікарського засобу: Інформація про те, як і де використовувати лікарський засіб.

Особливі застереження: Інструкції та попередження щодо застосування та зберігання лікарського засобу.

Дата закінчення терміну придатності: Інформація про дату закінчення терміну придатності.

Умови зберігання: Умови, за яких повинен зберігатися лікарський засіб.

Інформація щодо маркування шрифтом Брайля: Інформація, яка надає можливість користувачам із вадами зору користуватися продуктом.

Ця інформація на обох рівнях упаковки обов'язкова та має бути затверджена шляхом проведення контролю якості, щоб забезпечити безпеку та якість лікарського засобу.

Лікарський засіб з наночастинками срібла у вигляді пластикових флаконів має свої переваги в порівнянні з іншими формами випуску:

Зручність та точність дозування: Пластикові флакони дозволяють користувачам точно дозувати необхідну кількість препарату. Великий обсяг флаконів полегшує вимірювання та дозування, що важливо для забезпечення правильного та ефективного лікування.

Зручність застосування: Пластикові флакони мають зручні кришки, які легко відкриваються та закриваються. Це робить застосування препарату простим і зручним для різних груп користувачів.

Захист від зовнішнього впливу: Пластикові флакони добре захищають вміст від світла, вологи та контакту з повітрям, що може вплинути на

стабільність і якість препарату. Це особливо важливо для збереження ефективності препарату протягом тривалого терміну придатності.

Економічність та доступність: Пластикові флакони можуть бути виготовлені з використанням відносно дешевих матеріалів, що може вплинути на ціну продукту та зробити його більш доступним для споживачів.

Екологічний аспект: Виробництво та використання пластикових флаконів можуть бути більш екологічною альтернативою іншим формам упаковки, якщо вони виготовляються з врахуванням можливості подальшої переробки та вторинного використання [105].

2.3. Обґрунтування вибору біологічного агенту

Відомо, що срібло та його сполуки мають сильну пригнічувальну та мікробіцидну дію на бактерії, грибки та віруси. Порівняно з іншими металами, срібло виявляє більш високу токсичність для мікроорганізмів і меншу токсичність для клітин ссавців. Останні дослідження наночастинок металів показали, що наночастинки срібла (SNP) мають широкі можливості для продуктів охорони здоров'я, таких як опікові пов'язки, каркаси, системи очищення води, антимікробні засоби та медичні пристрої. Небагато досліджень присвячені застосуванню в сільському господарстві. Тому багато людей намагалися синтезувати SNP за допомогою різних методів синтезу, включаючи хімічне відновлення, електрохімічні методи, фотохімічні реакції, а тепер і за допомогою екологічної хімії. Використання рослин і мікробів у синтезі SNP є досить новим методом, оскільки він економічно ефективний і безпечний для навколишнього середовища (Mustapha T, 2022)

Біогенний спосіб дає змогу отримувати наночастки з різною формою та розмірами, що досягається зміною температури, рН, часу культивування, концентрації солей металів або інших елементів тощо. Наночастки містять на поверхні біомолекули, що робить їх біосумісними і надає можливість використовувати у медицині та суміжних галузях [106].

У цьому розділі ми охарактеризуємо особливості отримання наночасток срібла за допомогою бактерій, порівняємо штами бактерії, які використовуються в процесі біосинтезу. Охарактеризуємо особливості процесу біосинтезу, розмір та форму наночастинок.

За даними, наведеними в *табл. 1*, можна зробити висновок, що тривалість культивування у штамів складає 24 та 18 годин, а тривалість біосинтезу наночасток дуже різна. Найнижча тривалість біосинтезу, складає 24 год, а найдовший процес біосинтезу тривав 36 годин. Але того, щоб остаточно обрати біологічний агент потрібно врахувати розцінки на компоненти живильного середовища. Тому на наступному етапі вибору біологічного агента розрахуємо вартість поживних середовищ для культивування обраних мікроорганізмів (*табл. 2.2*).

Особливості отримання наночастинок срібла за допомогою бактерій

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Тривалість культивування біологічного агента, год	Тривалість біосинтезу наночастинок, год	Форма, розміри наночастинок	Особливості процесу біосинтезу	Джерело
1	2	3	4	5	6	7
<i>A. calcoaceticus</i> <i>LRVP54</i>	Пептон –10 г/л, Дріжджовий екстракт – 5 г/л, Хлорид натрію –5 г/л.	24	24	Моно дисперсні сферичні, 8— 12 нм	Безклітинний супернатант, 0.7 мМ нітрату срібла, 70°C, 24 год, статичні умови	Singh R., Wagh P., Wadhvani S., Gaidhani S., Ivumbhar A., Bellare J., Chopade B. A. Synthesis, optimization, and characterization of silver nanoparticles from <i>Acinetobacter</i> <i>calcoaceticus</i> and their enhanced antibacterial activity when combined with antibiotics, <i>Int. J.</i> <i>Nanomedicine</i> . 2013, 8: 4277—90. doi: 10.2147/IJN.S48913
<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> ATCC <i>6538p</i>	Пептон –10 г/л, Дріжджовий екстракт – 5 г/л, Хлорид натрію –5 г/л.	24	28	Сферичні, 5— 40 нм	Культуральна рідина, рН-8, 10мл 2 мМ нітрату срібла, 35°C, 150 об/хв	Rezvani Amin Z, Khashyarmansh Z, Fazly Bazzaz BS, Sabeti Noghabi Z. Does Biosynthetic Silver Nanoparticles Are More Stable With Lower Toxicity than Their Synthetic Counterparts? <i>Iran J Pharm Res</i> . 2019 Winter;18(1):210-221. PMID: 31089356; PMCID: PMC6487435.
<i>B. subtilis</i> <i>SDUM301120</i>	Глюкоза – 20 г/л, Глутамінова кислота-5г/л, КН ₂ РO ₄ – 1 г/л, MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,5 г/л, KCl – 0,5 г/л, Дріжджовий екстракт-1 г/л, MnSO ₄ ·5H ₂ O – 0,005 г/л, CuSO ₄ ·5H ₂ O – 0,00016г/л, FeSO ₄ ·7H ₂ O – 0,00015 г/л, L-фенілаланін – 0.002 г/л	18	36	Сферичні, 2 – 26 нм	Безклітинний супернатант, 1 мМ нітрату срібла, 21—25°C, 200 об/хв	Xiuxia Yu, Junyu Li, Dashuai Mu, Hui Zhang, Qiaoxi Liu & Guanjun Chen (2021) Green synthesis and characterizations of silver nanoparticles with enhanced antibacterial properties by secondary metabolites of <i>Bacillus</i> <i>subtilis</i> (SDUM301120), <i>Green Chemistry</i> <i>Letters and Reviews</i> , 14:2, 190-203, DOI: 10.1080/17518253.2021.1894244

Вартість поживних середовищ для культивування

Продуцент	Компонент поживного середовища	Концентрація у ПС, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації (1, 2, 3)*
1	2	3	4	5	6
<i>A. calcoaceticus LRVP54</i>	Пептон	10	123	1,23	1
	Дріжджовий екстракт	5	1100	5,5	1
	Хлорид натрію	5	15	0,075	5
	Вартість 1 л середовища ≈ 6,8 грн				
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538p	Пептон	10	123	1,23	1
	Дріжджовий екстракт	5	1100	5,5	1
	Хлорид натрію	5	15	0,075	5
	Вартість 1 л середовища ≈ 6,8 грн				
<i>B. subtilis SDUM301120</i>	Глюкоза	20	100	2	2
	Глутамінова кислота	5	1300	6,5	3
	КН ₂ РО ₄	1	141	0,141	4
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5	21	0,125	7
	KCl	0,5	250	0,125	2
	Дріжджовий екстракт	1	1100	5,5	5
	MnSO ₄ ·5H ₂ O	0,005	3000	0,015	4
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,00016	210	0,0000336	6
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,00015	150	0,0000225	7
	L-фенілаланін	0.002	1500	0,003	8
	Вартість 1 л середовища ≈ 14,4 грн				

Примітка. * – Ціни наведено станом на грудень 2023 р. 1 – <https://prom.ua>, 2 – <https://www.carlroth.com>, 3 – <https://www.sigmaaldrich.com>, 4 – <https://agreemarket.com>, 5 – <https://reaplus.com>, 6 – <https://labormarket.com>, 7 – <https://himiko.com>, 8 – <https://flagma.ua>.

Дані, наведені в таблицях 2.1 та 2.2 свідчать, що у двох штамів найменший час біосинтезу, їхнє середовище для культивування теж коштує однаково. Тому потрібно обрати біологічний агент, який не тільки матиме короткий час біосинтезу та низьку вартість, а й виробляє наночастки із найменшими стабільними розмірами. Отже, можна зробити висновок, що найкращим

кандидатом для культивування з усіх представлених продуцентів є *A. calcoaceticus LRVP54*.

2.4. Розрахунок потреби у субстанції для випуску та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції

З метою забезпечення 2 % населення України універсальний бактерицидним та протизапальним засобом з наночастками срібла проти хвороби сечостатевої системи необхідно отримати 922,2 л культуральної рідини.

Кількість культуральної рідини за цикл ферментації. Прийнемо кількість робочих днів $T_{рд} = 300$, тоді розрахуємо кількість продукту на добу:

$$V_{д} = \frac{V_{гп}}{T_{рд}} = \frac{922,2}{300} = 3,074 \text{ л}$$

Кількість продукту за один цикл ($V_{кр}$) становитиме:

$$V_{кр} = \frac{K_1 \times V_{д} \times T_{цф}}{24} = \frac{1,1 \times 3,074 \times 128}{24} = 18 \text{ л/цикл,}$$

де K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій ($K_1 = 1,1$); $T_{цф}$ – цикл роботи ферментера, який включає в себе тривалість виробничого біосинтезу (120 год) та час підготовки ферментера до роботи (8 год).

Кількість циклів ферментації складатиме:

$$N_{цк} = \frac{V_{гп}}{V_{кр}} = \frac{922,2}{18} = 51 \text{ циклів}$$

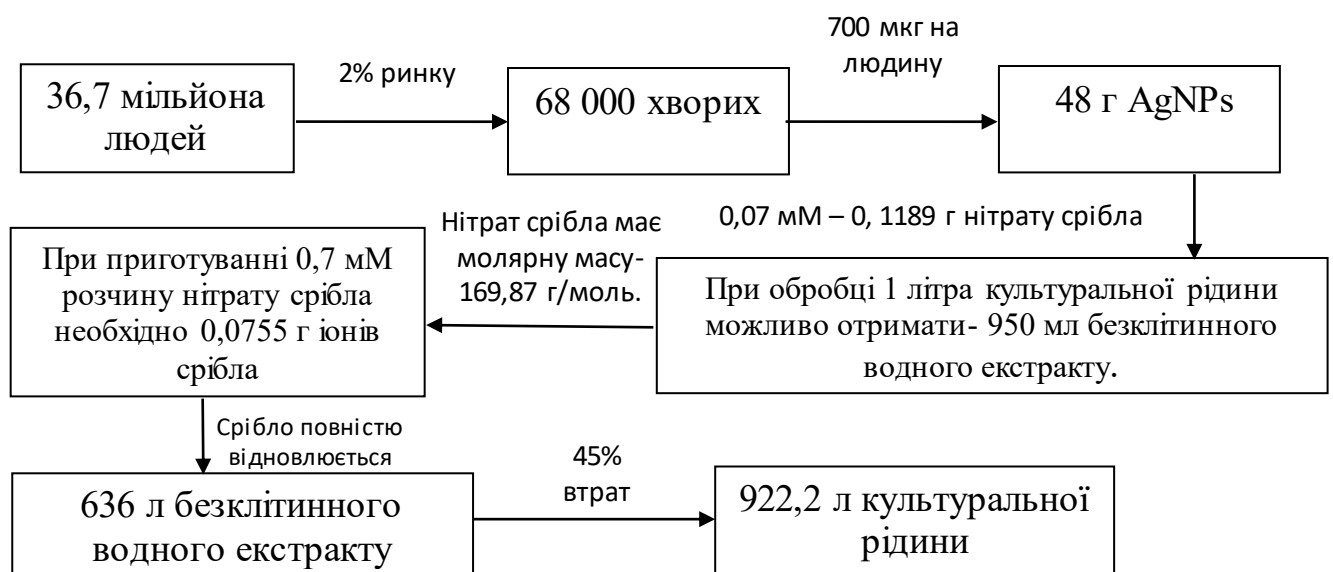


Рис.2.1. Схема визначення необхідної кількості безклітинного водного екстракту

Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу. Для того, щоб отримати за один цикл $V_{кр} = 18$ л культуральної рідини необхідно врахувати втрати у результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становитимуть 10%. Отже кількість поживного середовища і посівного матеріалу перед виробничим біосинтезом у самому ферментері буде становити:

$$V_{роб} = V_{кр} / (1 - E_{ф}) = 18 / (1 - 0,1) = 20 \text{ л}$$

де $E_{ф}$ – втрати культуральної рідини під час біосинтезу

Обравши коефіцієнт заповнення ($K_{зап} = 0,5$), розрахуємо можливий геометричний об'єм ферментера ($V_{ф}$):

$$V_{ф} = V_{роб} / K_{зап} = 20 / 0,5 = 40 \text{ л}$$

Прийmemo найближчий за об'ємом стандартний ферментер: $V_{сф} = 40$ л та уточнимо, прийнятий нами раніше, коефіцієнт заповнення:

$$K_{зап} = V_{роб} / V_{сф} = 20 / 40 = 0,5$$

Уточнений коефіцієнт заповнення знаходиться в межах норми, тому можна зробити висновок, що об'єм ферментера було обрано вірно.

РОЗДІЛ 3

ОБГРУНТУВАННЯ РУНТУВАННЯ ВИБОРУ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ

3.1. Обґрунтування способу відділення біомаси

Відділення біомаси можна реалізувати різними методами, які були розглянуті в роботах Пенчука (2019) та Карлаша (2013). Нижче представлено докладний огляд цих методів:

Седиментація:

Седиментація полягає в осіданні твердих частинок, що зависли в рідині, та їх подальшому відстоюванні. Цей метод застосовується у процесах, таких як бродіння та переробка відходів. Недоліком є тривалий час, необхідний для відділення біомаси від продукту. Порівняно з іншими методами, використання седиментації не є оптимальним з точки зору ефективності.

Фільтрація:

Фільтрація передбачає розділення твердої та рідкої фаз під час проходження суспензії через пористу перегородку. Зниження швидкості фільтрації відбувається через наростання біомаси на фільтрі. Для інтенсифікації процесу застосовують кислотну або теплову коагуляцію, а також барабанні вакуум-фільтри з перлітом чи діатомітом на фільтрувальній тканині. Цей метод менше енергозатратний, але менше ефективний порівняно з центрифугуванням.

Центрифугування:

Центрифугування – це процес розділення рідких неоднорідних систем за дією відцентрових сил. Швидкість розділення у центрифугах вища, ніж у фільтрах, завдяки більшій рушійній силі. Цей метод часто використовується у промисловому біотехнологічному виробництві через його переваги: високу швидкість, здатність обробляти великі об'єми важкофільтруємих суспензій,

					<i>НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>РОЗДІЛ 3 ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ</i>	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>	<i>Вовк Т.А.</i>						<i>44</i>	<i>101</i>
<i>Перевір.</i>	<i>Скроцька О.І.</i>							
<i>Реценз.</i>								
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>							<i>Кафедра БТМ</i>

найменші втрати та зміни пулулану, просту автоматизацію, компактність та легку мийку апаратури, відсутність потреби у фільтрувальних добавках.

У промисловій біотехнології для розділення, концентрації та очищення біомаси найчастіше використовують сепаратори через їхні переваги, такі як велика швидкість, здатність обробляти великі об'єми суспензій, мінімальні втрати та зміни пулулану, проста автоматизація, компактність та легка мийка апаратури, а також відсутність потреби у фільтрувальних добавках. Але на основі відомостей з статей, де центрифугування вже успішно використовувалося для оптимізації процесів біосинтезу та виділення наночастинок. Такий вибір гарантує ефективне відділення біомаси наночастинок срібла в умовах промислового біотехнологічного виробництва.

3.2. Обґрунтування способу очищення

Обґрунтування способу очищення наночастинок срібла, що застосовуються в медицині, є ключовим у забезпеченні високого ступеня чистоти (Barcelos, 2020; Agrawal, 2022). Нижче розглянуті різні методи для досягнення цієї мети:

Повторне осадження органічними розчинниками:

Цей метод використовує органічні розчинники для повторного осадження наночастинок срібла, що дозволяє відокремити їх від інших компонентів. Ефективність методу залежить від обраних розчинників та умов осадження.

Депротейнізація фізичними або хімічними методами:

Для забезпечення високого ступеня очищення використовують депротейнізацію, яку можна провести фізичними або хімічними методами. Зокрема, реагент Севіджа може бути ефективним для видалення білкових домішок.

Комбіновані мембранні процеси:

Діаліз та електродіаліз: Застосування напівпроникних мембран для відділення різних речовин. Електродіаліз може прискорити цей процес, зробивши його більш доступним для промислового виробництва.

Ультрафільтрація: Використовується для концентрації наночастинок. Проблема забивання мікропор може бути вирішена за допомогою хімічних інгібіторів або підвищення швидкості та турбуляризації потоку.

Зворотній осмос:

Процес, що використовує мембрани з порами меншого розміру та вищий тиск для концентрації низькомолекулярних речовин. Однак для наночастинок цей метод може виявитися неефективним через їхні маленькі розміри.

Враховуючи вищезазначені методи, найоптимальнішим для промислового виробництва, забезпечуючи максимальне очищення та концентрацію наночастинок срібла без додаткових комбінацій методів, є ультрафільтрація в поєднанні з центрифугуванням попередньо розчиненого у питній воді очищеного осаду срібла. Цей метод володіє перевагами ефективності та економії, не вимагаючи додаткових комбінацій методів.

3.2. Обґрунтування способу висушування

Ліофілізація - це метод отримання сухих тканин, препаратів, продуктів та інших матеріалів, забезпечуючи збереження структурної цілісності та біологічної активності, процес ліофілізації дозволяє білкам залишатися стійкими до денатурації, що дозволяє їм зберігатися протягом тривалого періоду при помірному охолодженні, приблизно до 0 °C.

Процес ліофільного сушіння відбувається в глибокому вакуумі. Початкові етапи включають віддавання вологи матеріалом, охолодження і самозаморожування. Після цього у сублімаційній сушарці подається тепло, і лід переходить у газову фазу безпосередньо, проходячи стадії заморожування, осадження, сублімації та остаточного видалення вологи з ферментних осадів. Час висушування залежить від різноманітних чинників, таких як температура, товщина шару матеріалу, рівень вакууму в камері, температура теплоносія та фізико-хімічні властивості самого матеріалу.

Переваги ліофілізації включають збереження біологічної активності живих клітин, дисперсної фази препарату, тривалий термін зберігання висушеного продукту та відсутність впливу високих температур.

РОЗДІЛ 4

ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ

Підбір обладнання із врахуванням матеріальних потоків представлено в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

№ п/п	Назва стадії (операції)	Матеріальні потоки на стадії	Кількість по стадіях			Необхідне обладнання
			Надійшло	Втрати, (разом 45%)	Вийшло	
1	2	3	4	5	6	7
ТП 1. Зберігання культуральної рідини						
1.	ТП 1. Зберігання культуральної рідини	Культуральна рідина	0,02 м ³ (20 л)	–	0,02 м ³ (20 л)	Збірник для культуральної рідини об'ємом 25 л. Перекачується за допомогою відцентрового насоса в центрифугу
ТП 2. Відділення біомаси						
2.	ТП 2.1. Центрифугування культуральної рідини	Біомаса	0,04 кг (0,02×2) 90% 0,4 кг	5% 0,02 кг	0,38 кг	Центрифуга продуктивністю 0,1 - 4 л/хв. Відцентровим насосом перекачуємо до реактора змішувача об'ємом 15 л
		Супернатант	20-0,04	–	19,96 л	На утилізацію
3.	ТП 2.2. Промивання клітин	Стерильна дистильована вода	10 л	–	–	Через лічильник подаємо у реактор-змішувач
		Біомаса із стерильною дистильованою водою	0,38 кг+10 л	–	10,38 л	Реактор змішувач об'ємом 15 л. Перекачується за допомогою відцентрового насоса в центрифугу

НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ				
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата
Розроб.	Вовк Т.А.			
Перевір.	Скροцька О.І.			
Реценз.				
Н. Контр.				
Затверд.	Стабніков В.П.			
РОЗДІЛ 4 ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ				
		Літ.	Арк.	Аркушів
			48	101
Кафедра БТМ				

Продовження таблиці 4.1

4.	ТП 2.3 Центрифугу вання	Біомаса 0,02076 кг (0,01038×2)	90% 0,2076 кг	5% 0,0103 8кг	0,19722 кг	Центрифуга продуктивністю 0,1 - 4 л/хв. Відцентровим насосом перекачуємо до реактора змішувача об'ємом 20 л
		Супернатант	10,38- 0,02076	–	10,36 л	На утилізацію
ТП 3. Отримання безклітинного водного екстракту						
5.	ТП 3.1. Отримання екстракту	Стерильна дистильована вода	15 л	–	–	Через лічильник подаємо у реактор- змішувач
		Біомаса із стерильною дистильованою водою	0,19722 кг + 15 л	–	15,19	Реактор змішувач об'ємом 20 л
6.	ТП 3.2. Центрифугу вання	Біомаса	0,020кг (0,10197 22×2) 90% 0,20кг	5%	0,19 кг	Центрифуга продуктивністю 0,1 - 4 л/хв. На утилізацію
		Супернатант	15 л	–	–	Відбирається до фільтраційної установки
7.	ТП 3.3. Фільтрація водного екстракту	Осад	0,7 кг	–	–	Фільтраційна установка. На утилізацію
		Безклітинний водний екстракт	95% 14,7 л	15%	12,8 л	Перекачується за допомогою відцентрового наосу до реактор- біосинтезу об'ємом 25 л
ТП 4 Біосинтез наночастинок срібла						
8.	ТП 4.1 Додавання нітрату срібла	Нітрат срібла (0,1189 г/л) 1 г = 1/1000 л = 0.001 л	Нітрат срібла 2,378 г	–	–	В реакторі- біосинтезу об'ємом 25 л безклітинний водний екстракт доводять до 20 л
9.	ТП 4.2 Біосинтез наночастинок срібла	Безклітинний водний екстракт із синтезованими наночастинами концентрацією 0,0755 г/л	20,002 л	–	–	Із реактор- біосинтезу об'ємом 25 л. за допомогою відцентрового наосу перекачується в центрифугу

ТП 5 Виділення та очищення наночастинок срібла						
10.	ТП 5.1 Осадження наночастинок	Надосад	20 л	–	–	На утилізацію
		Осажені наночастинок	1,83 г	5%	1,74 г	Центрифуга продуктивністю 0,1 - 4 л/хв. Перекачується за допомогою відцентрового насосу в реактор- змішувач об'ємом 15 л
11.	ТП 5.2 Промивання наночастинок	Вода	10 л	–	–	Через лічильник подаємо у реактор- змішувач об'ємом 15 л
		Наночастинок із водою	10,001 л	–	–	Переміщують в центрифугу
12	ТП 5.3 Центрифугу вання	Надосад	9,99 л	–	–	На утилізацію
		Осад з наночастинок и	1,74 г	5%	1,665 г	Переміщують в ліофільну сушку
ТП 6 Сушіння цільового продукту						
13.	ТП 6.1 Ліофільне сушіння	Вологий осад		–	–	Ліофільна сушарка
		Сухий осад	1,665 г	4%	1,586 г	Переносна ємність
ПМВ 7 Пакування, маркування, відвантажування субстанції цільового продукту						
14.	ПМВ 7.1 Пакування, маркування, відвантажуван ня субстанції цільового продукту	Упаковка цільового продукту	1,5251 г	1%	1,51 г	Ручне фасування в поліетиленові пакети, настільний зварювач пакетів

РОЗДІЛ 5

СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання продемонстровано в табл 5.1.

Таблиця 5.1.

Специфікація обладнання ділянки виділення та очищення наночастинок

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
З-1	Збірник об'ємом 25 л	1	Збірник об'ємом 25 л, внутрішній діаметр – 3400 мм, товщина стінки – 30 мм, оснащений сорочкою та перемішувальним пристроєм (20-1000 об/хв), сталь н/ж 316L AISI. Виробник: «Промвіт» (Україна) ¹
НВ-2 НВ-4 НВ-6 НВ-8 НВ-10 НВ-12 НВ-14 НВ-16 НВ-18 НВ-20	Відцентровий насос продуктивністю 5 м ³ /год	11	Відцентровий насос продуктивністю 83 л/хв, виготовлений з нержавіючої сталі AISI 316, робоча температура до 70°C, максимальний тиск – 3,0 бар. Виробник: «FINISH THOMPSON», США ²
Ц-3 Ц-7 Ц-11 Ц-17 Ц-21	Центрифуга	5	Центрифуга Centritech VP Pilot Матеріал: нержавіюча сталь. Швидкість потоку 0,1 - 4 л / хв. Габаритні розміри: 840 мм × 1000 мм × 1080 мм. Виробник: «ЛабДепо », Україна ³
РЗ-5 РЗ-19	Реактор змішувач об'ємом 15 л	2	Реактор з нержавіючої сталі об'ємом 15 л, сталь AISI, робочий тиск 0,07-0,3 МПа, пропелерна мішалка ⁴
РЗ-9	Реактор змішувач об'ємом 20 л	1	Реактор Biostat Cplus із сорочкою та оглядовим склом є обладнаним датчиками для вимірювання рН, температури, рівня кисню та КР. Має об'єм 0,02 м ³ та габаритні розміри 1,9x1,02x0,75 м. Мішалка працює у діапазоні обертів від 20 до 1000 об/хв з потужністю 1,2 кВт. Робочі параметри включають рН від 2 до 12, температуру від 0 до 150 °С, тиск до 0,2 МПа. Виготовлений з нержавіючої сталі AISI 316L та борсилікатного скла. Виробник: "Sartorius" ⁵

НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата
Розроб.		Вовк Т. А.		
Перевір.		Скороцька О.І.		
Реценз.				
Н. Контр.				
Затверд.		Стабніков В.П.		

РОЗДІЛ 5
СПЕЦИФІКАЦІЯ
ОБЛАДНАННЯ

Лім.	Арк.	Аркушів
	51	101
Кафедра БТМ		

Закінчення таблиці 5.1

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
ФУ-13	Фільтраційна установка	1	Фільтраційна установка Toray UFS 272T-S, максимальна продуктивність – 12 м ³ /год, кількість картриджів – 2 шт., матеріал фільтрувальних елементів – поліефірсульфон, діаметр пор мембран – 50 і 150 кДа, площа фільтрації – 144 м ² , робочий тиск – 1,0 – 7,0 атм, перепад тиску – 0,2-2,0 атм. Габаритні розміри: довжина – 1700 мм, ширина – 700 мм. Виробник: «Тогау», Японія ⁶
РБ-15	Реактор-біосинтезу об'ємом 25 л	1	Реактор РСМ-25, V=25л Оснащений пропелерною мішалкою з частотою 10-375 об/хв. Матеріал: сталь AISI 316L. Робочий тиск - 0,3 МПа. Виробник: ТОВ «Кабельфармтехніка» ⁷
НП-22	Насос перистальтичний	1	Насос перистальтичний SKCR0010M3000. Тип насоса-перистальтичний Тип робочого елементу-перистальтична трубка Тип приводу-електродвигун постійного струму Максимальна продуктивність- 10 л/год Максимальний тиск- 0,1 бар Висота самовсмоктування-2 м Потужність двигуна-0,0035 квт Живлення-230 Vac Виробник: SEKO S.P.A., Італія ⁸
ЛС-23	Ліофільна сушарка	1	Ліофільна сушарка FreeZone 2.5 Liter NEW Розмір ШxГxВ - 37 x 49 x 43 см, вага - 39 кг Температура конденсатора – -85°C, Діапазон температури на полицях від -60 до +85°C Виробник: Labconco Corporation ,США ⁹

Примітка: 1- <https://promvit.com.ua/>, 2- <https://ascopumps.com.ua/>, 3- <https://labdepo.com.ua/>, 4- <https://khimmix.ua/ua/>, 5-<https://sartorius.com.ua/>, 6- <https://h2o.kharkov.ua/ua/>, 7-<http://www.kft2.com.ua/>, 8- <https://dosingtech.com.ua/uk/>, 9- <https://alemtrade.com>

РОЗДІЛ 6

ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПРОЦЕСІВ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА

Технологічна схема післяферментаційних стадій одержання включає проведення технологічних процесів

ТП 1. Зберігання культуральної рідини

ТП 1.1. Зберігання культуральної рідини

Після виробничого біосинтезу клітин в середовищі Лурія Бертані при 30°C/200 об/хв протягом 24 годин. культуральну рідину *Acinetobacter calcoaceticus* об'ємом 20 л зберігають за температури 4±1°C у збірнику об'ємом 25 л (З-1). В подальшому культуральну рідину передають на стадію ТП 2.1.

ТП 2. Відділення біомаси

ТП 2.1. Центрифугування культуральної рідини

Культуральну рідину (від ТП 1) за допомогою відцентрового насосу (НВ-2) перекачують до центрифуги (Ц-3). Для відокремлення біомаси від культуральної рідини центрифугування проводять при 6000 об/хв за температури 4°C протягом 7 хв. Отримана біомаса (0,38 кг) за допомогою відцентрового насосу (НВ-4) перекачується до реактора змішувача об'ємом 15 л (Р-5).

ТП 2.2. Промивання клітин

До реактора-змішувача об'ємом 15 л (РЗ-5) подається стерильна дестильована вода 10 л для промивання клітин. Клітини промиваються і за допомогою відцентрового насосу (НВ-6) перекачується до центрифуги (Ц-7).

ТП 2.3. Центрифугування

Центрифугування клітин відбувається при 8000 об/хв протягом 15 хвилин при 4°C і за допомогою відцентрового насосу (НВ-8) перекачується до до реактора змішувача об'ємом 20 л (РЗ-9).

					<i>НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ</i>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Вовк Т.А.				РОЗДІЛ 6 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	Лит.	Арк.	Аркушів
Перевір.	Скороцька О.І.						53	101
Реценз.						<i>Кафедра БТМ</i>		
Н. Контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.							

ТП 3. Отримання безклітинного водного екстракту

ТП 3.1. Отримання екстракту

У реактор змішувач об'ємом 20 л (РЗ-9) до клітин додають стерильну дистильовану воду і витримують при 30°C/200 об/хв протягом 72 годин потім за допомогою відцентрового насосу (НВ-10) перекачується до центрифуги (Ц-11).

ТП 3.2. Центрифугування

Центрифугування клітин відбувається центрифугі (Ц-11) при 8000 об/хв протягом 15 хвилин при 4°C після цього за допомогою відцентрового насосу (НВ-12) водний екстракт перекачується до фільтраційної установки (Ф-13).

ТП 3.3. Фільтрація водного екстракту

Водний екстракт (від ТП 3.2) перекачують за допомогою відцентрованого насосу (НВ-12) до фільтраційної установки (Ф-13) де для очищення водного екстракту від сторонніх високо- і низькомолекулярних сполук, а також клітинних залишків здійснюється фільтрація розчину на мембранах з діаметром пор 0,2 мкм. Промивання мембран здійснюють водою питною. Після фільтрації безклітинний водний екстракт за допомогою відцентрового насосу (Н-14) подається у реактор-біосинтезу (РБ-15) для подальшого технологічного процесу. Одержаний осад відправляється на утилізацію.

ТП 4. Біосинтез наночастинок срібла

ТП 4.1. Дадавання нітрату срібла

Безклітинний водний екстракт (від ТП 3.3) перекачується за допомогою відцентрового насосу (НВ-14) до реактора-біосинтезу об'ємом 25 л (РБ-15). Для забезпечення процесу утворення наночастинок срібла у реактор-біосинтезу об'ємом 25 л із безклітинним водним екстрактом доливають воду так, щоб об'єм становив 20 л. Потім сюди додають нітрат срібла у кількості 2,378 г.

ТП 4.2. Біосинтез наночастинок срібла

Біосинтез наночастинок срібла відбувається у реакторі-біосинтезу об'ємом 25 л (РБ-15). Параметри для біосинтезу: 40°C у статичних умовах, протягом 24 год. Далі реакційну суміш із синтезованими наночастинами із реактор-біосинтезу

(РБ-15) об'ємом 25 л за допомогою відцентрового насосу (НВ-16) перекачується в центрифугу (Ц-17).

ТП 5. Виділення та очищення наночастинок срібла

ТП 5.1. Осадження наночастинок

У центрифугі (Ц-17) безклітинний водний екстракт із синтезованими наночастинками центрифугували при 14000 об/хв протягом 30 хвилин при кімнатній температурі. Після центрифугування осаджені наночастинки перекачуються за допомогою відцентрового насосу (НВ-18) в реактор- змішувач (РЗ-19) об'ємом 15 л. Одержаний надосад відправляється на утилізацію.

ТП 5.2. Промивання наночастинок

В реактор- змішувач (РЗ-19) об'ємом 15 л подається 10 л води для промивання наночастинок після промивання наночастинок перекачуються за допомогою відцентрового насосу (НВ-20) у центрифугу (Ц-21)

ТП 5.3. Центрифугування

Осадження промитих наночастинок срібла відбувається у центрифугі (Ц-21) при 8000 об/хв протягом 15 хвилин при 20°C після цього за допомогою пирестальтичного наносу (НП-22) перекачується до ліофільної сушарки (ЛС-23).

ТП 6. Сушіння наночастинок срібла

ТП 6.1. Ліофільне сушіння

Вологий осад наночастинок (від ТП 7.2) розміщують у лотках на полицях ліофільної сушарки (ЛС-23) та заморожують за температури -84°C. Після герметизації сублімаційної камери в ній створюють вакуумом 0,13 – 0,4 мбар, ліофільне висушування осаду здійснюють за температури -50°C протягом 72 год до вологості 10%. Висушений осад наночастинок масою 1,586 г передають на стадію ТП 7.

ТП 7. Фасування

ТП 7.1. Фасування

Сухий порошок наночастинками з попередньої стадії передається на фасувально-пакувальну лінію, вручну пакують в окремі поліетиленові пакети по

0,5 г та запаюють з використанням електричного зварювача відправляється далі на підприємства, де відбувається фасування наночастинок по індивідуальним флаконам і випускається готовий лікарський препарат.

РОЗДІЛ 7

КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ

7.1. Характеристика цільового продукту (наночастинок срібла). Для характеристики наночастинок необхідно відібрати 10 мл реакційної суміші. Характеристика отриманих наночастинок проводиться шляхом вимірювання спектрів за допомогою спектрофотометра, а також визначення розмірів і форми за допомогою електронної мікроскопії та наносайзеру.

7.1.1. Вимірювання спектрів. Вимірювання проводять за допомогою багаторежимного зчитувального пристрою SpectraMax M5 (Molecular Devices LLC, Саннівейл, Каліфорнія, США) при довжині хвилі від 300 до 800 нм. Контроль виконують за допомогою супернатанту без додавання AgNO_3 . Під час експерименту 5 мл безклітинного водного екстракту поміщали в кювету та встановлювали спектр контролю. Потім, 5 мл реакційної суміші вводили в другу кювету та проводили вимірювання спектра зразка.



Рис. 7.1. Багаторежимний зчитувальний пристрій SpectraMax M5.

7.1.2. Характеристика форми та розміру наночастинок.

Після завершення 120-годинного процесу синтезу проводилася процедура центрифугування для розділення зразку AgNP . Центрифугування виконували протягом 30 хвилин при швидкості 14000 обертів за хвилину за кімнатної

					<i>НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ</i>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 7 КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ	Лім.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Вовк Т.А.						
Перевір.		Скряцька О.І.					57	103
Реценз.						<i>Кафедра БТМ</i>		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

температури. З метою видалення непотрібних домішок, були проведені повторні промивання отриманого осаду AgNPs. Сам осад був роздиспергований у 1 мл стерильної води Milli-Q.

Далі, для аналізу внутрішньої структури висушених тонких плівок AgNPs, використовували рентгенівську дифракцію (XRD). Експериментальні дані були отримані за допомогою рентгенівського дифрактометра D8 Advanced Bruker, в якому використовувалася $\text{Cu K}\alpha$ (довжина хвилі 1,5 Å) як джерело випромінювання.

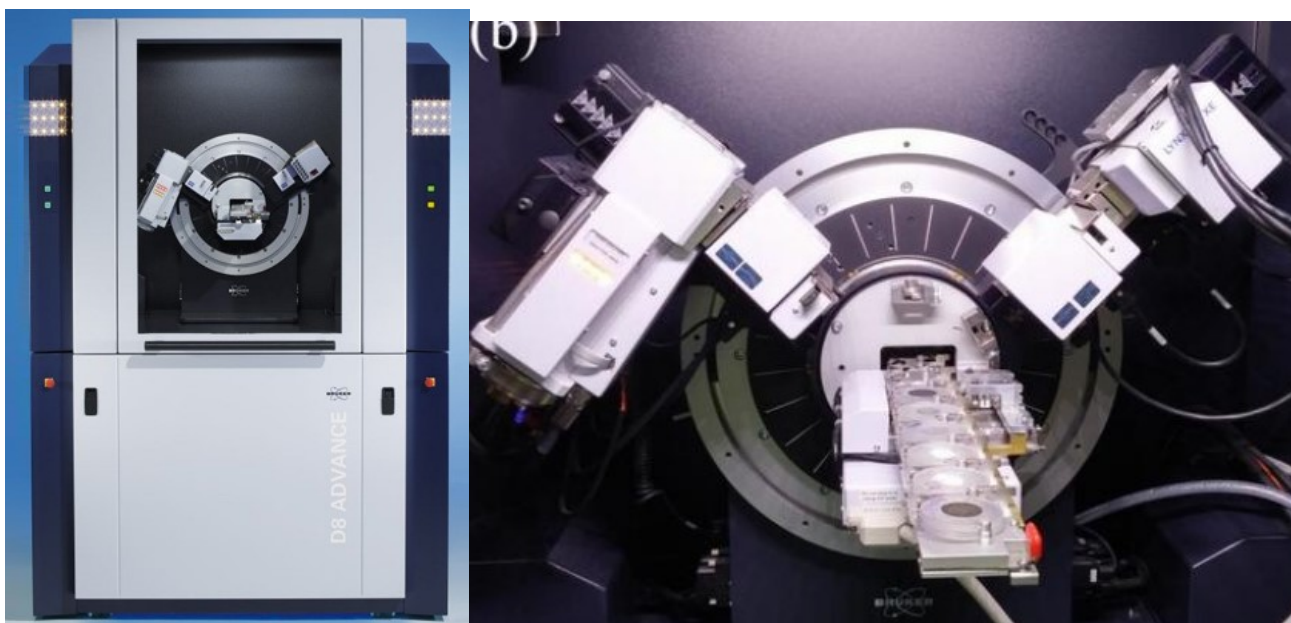


Рис. 7.2. Рентгенівський дифрактометр Bruker D8 ADVANCE.

Краплю зразка AgNP висушували на предметному склі для аналізу під скануючим електронним мікроскопом (SEM) (JSM-6360; JEOL, Токіо, Японія) при прискорювальній напрузі 20 кВ.



Рис. 7.3. Скануючий електронний мікроскоп (SEM) (JSM-6360; JEOL, Токіо, Японія).

Зразки для трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) і ТЕМ високої роздільної здатності (HR-ТЕМ) готували шляхом нанесення розчину AgNPs на мідну сітку з вуглецевим покриттям і висушування під інфрачервоним випромінюванням. Аналіз проводився на FEI Теснаі G²12 БіоТвін (компанія FEI, Ейндховен, Нідерланди) ТЕМ і JEM-2100 (JEOL) HR-ТЕМ.



Рис. 7.4. Трансмісійний електронний мікроскоп FEI Теснаі G²12 БіоТвін та просвічуюча електронна мікроскопія з високою роздільною здатністю JEM-2100

Наявність елементарного срібла було підтверджено за допомогою енергодисперсійної спектроскопії (EDS) (JED-2300; JEOL), обладнання, що входить до HR-ТЕМ.



Рис. 7.5. Прилад для енергодисперсійної спектроскопії (EDS) (JED-2300; JEOL).

Розмір частинок зразка об'ємом 3 мл оцінювали за допомогою приладу динамічного розсіювання світла (Zetasizer Nano-2590; Malvern Instruments Ltd, Вустершир, Великобританія) у кюветі з полістиролу (*Singh, 2013*).

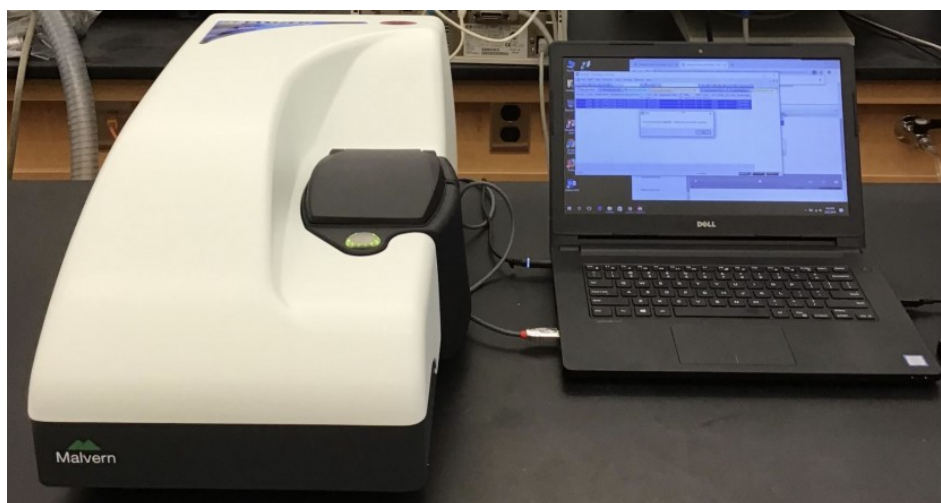


Рис. 7.6. Прилад динамічного розсіювання світла Zetasizer Nano

РОЗДІЛ 8

ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

ОДЕРЖАННЯ ЛЗ

8.1. Розрахунок річної потужності виробництва колоїдного розчину срібла та кількості серій на рік

У 1 флаконі місткістю 100 мл міститься 10 мкг/мл наночастинок срібла.

1 Флакон місткістю 100 мл має місти в собі 1000 мкг наночастинок срібла.

Кількість людей, яку пропонується забезпечувати за нашими розрахунками становить 68 000 людини. Для кожної людини на рік необхідно всього 1 флакон. Отже, кількість флаконів становить: 68000

Річна кількість субстанції становить:

$$68000 \times 1000 = 68\,000\,000 \text{ мкг або } 68 \text{ г або } 0,068 \text{ кг}$$

В одній упаковці міститься один флакон для нашого препарату вийде по 10 пачок в коробці. Тож, річна кількість коробок становить

$$68000 \div 10 = 6800 \text{ шт}$$

За одну серію вихід становить близько 100 упаковок. Отже, кількість серій становить:

$$6800 \div 100 = 68 \text{ серій}$$

8.2. Обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень, підготовки персоналу, дезинфікуючих засобів, вентиляційного повітря

Оскільки виробництво колоїдного розчину срібла спрямоване на виготовлення антибактеріальних препаратів для перорального застосування, клас чистоти А є необхідним фактором для належної роботи.

Клас А визначає область, де існує значна ймовірність контамінації, яка матиме негативний вплив на якість виготовленої продукції.

					<i>НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Вовк Т.А.</i>			РОЗДІЛ 8 ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ	<i>Лит.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Архувів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Скροцька О.І.</i>					61	101
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

Ця зона охоплює перебіг процесів дозування, наповнення ємностей, відкривання флаконів, крім того сюди входить змішування в умовах асептичності. Створення відповідних умов досягається за наявності ламінарного потоку повітря на місці роботи, де забезпечується рівномірна швидкість повітря на рівні 0,45 м/с з потенційним відхиленням у $\pm 20\%$ [107].

Одним із найнеобхідніших заходів для підтримки чистоти та мінімізації механічних і мікробних забруднень є підготовка робочих приміщень. Санітарне оброблення включає вологе прибирання, дезінфекцію та ультрафіолетове опромінення і направлена на формування відповідного рівня чистоти. Рекомендується прибирати виробничі приміщення щодня, крім того потрібно влаштовувати генеральне прибирання кожні 5-6 днів чи відразу ж за наказом бактеріолога [108].

Як правило дезінфекція приміщень та обладнання зменшує кількість мікроорганізмів на 40-60% від їхньої початкової кількості. При виборі методу дезінфекції потрібно зважати не тільки на здатність знищувати бактерії, але й на потенційну шкідливість для організму людини. Рекомендується виконувати прибирання різними засобами, такими як 1%-вий розчин дегміну, 0,5%-вий розчин хлоргексидину біглюконату, 2-6%-вий розчин водню пероксиду, розчини рецептури "С4" і "Стериліум", або інші спеціальні дезінфектанти і детергенти. Необхідно пам'ятати, що при користуванні одним дезінфікуючим засобом призводить до того, що мікроорганізми розвивають стійкість до нього і його подальше прибирання з цим засобом буде неієвим. Таким чином, рекомендується змінювати дезінфікуючі засоби кожні 10-14 днів [109].

Необхідно забезпечити цілковиту стерильність для мийних та дезінфікувальних засобів, які використовуються у зонах А і В. З метою зменшення мікробіологічної забрудненості у важкодоступних областях альтернативою використання є фумігація в "чистих" зонах [110].

Приміщення з ламінарним потоком охарактеризовані напрямком подачі повітря в робочу зону через фільтри, розташовані вздовж усіх стін або стелі, а

вивід повітря здійснюється через протилежну поверхню, відокремлену від місця входу.

Для підтримки відповідної чистоти повітря в системах "вертикальний ламінарний потік" і "горизонтальний ламінарний потік" використовують фільтраційні установки, які включають в себе фільтри для передочистки повітря та фільтри для тонкої очистки.

У приміщеннях з високим класом чистоти А/В обов'язкове використання стерильного брючного або робочого одягу, головних уборів, бахіл, масок, гумових або поліетиленових рукавичок. За можливості слід одягати одноразовий або спеціальний технічний одяг і взуття з мінімальною кількістю ворсу та пилу. Нижня частина штанів повинна бути захована за бахіли, а рукава заправлені в рукавички. Головний убір має ховати волосся і вставлятися в комір верхнього одягу.

Суттєвим є вибір матеріалів для створення технічного одягу. Тканини повинні мати низький рівень ворсу, підвищену повітропроникність (не менше 300 м³/(м² • с)), вологопоглинання не менше 7% та уникати накопичення статичного заряду. У зарубіжних країнах для цього застосовують поліефірне, поліпропіленове або поліалкідне волокно, тоді як у нас використовують тканини з поліефірної плівки та бавовни.

Необхідно брати до уваги і частоту зміни одягу, обґрунтовується відповідно до кліматичних умов та сезону. У приміщеннях з кондиціонованим повітрям рекомендується змінювати одяг не рідше одного разу на день, а захисну маску - кожні 2 години. Гумові рукавички потрібно міняти кожного разу коли руки вступають у контакт з обличчям чи кожного разу коли є ймовірність їх нестерильності.

Співробітникам, які працюють у "чистих" зонах, пред'являють високі стандарти для особистої чистоти та гігієни. У таких місцях забороняється носити наручні годинники, ювелірні вироби та макіяж.

Усі працівники, враховуючи тих, які відповідають за збірку обладнання і їхнє технічне обслуговування, що працюють у "чистих" зонах, повинні періодично проходити навчання з виробництва стерильних продуктів, особистої гігієни та основ мікробіології [110].

8.3. Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки

Підготовка флаконів до наповнення включає етап контролю. Пляшечки, у яких виявлені інохідні склоподібні домішки, сколи, тріщини або насічки, відбраковуються. Після проходження оцінки якості ємності мийуть шприцевою методикою відфільтрованою водою та продувають повітрям під тиском. Мийка флаконів, яка включає в себе внутрішню і зовнішню мийку флакона, проводиться за допомогою очищеної води.

Після чого пляшечки розміщуються вертикально на транспортерній стрічці стерилізаційного тунелю, котрий складається з зони суші, стерилізації та охолодження, де забезпечено ламінарний потік стерильного повітря. У першій зоні флакони піддаються сушці за допомогою підігрітого стерильного повітря і нагріваються до температури стерилізації приблизно 220 °С. Далі флакони спрямовують в стерилізаційну зону протягом 30 хвилин із температурою 280 °С. Після чого ємності охолоджуються до температури 20 °С. Завершивши ці етапи, ємності відбірково перевіряються на наявність механічних включень за допомогою освітлення фоном чорно-білого у світлі лампи потужністю 60 Вт.

Наповнення флаконів розчином та їх закупорка:

Заповнення флаконів відбувається на полуавтоматі шприцевим методом. Ємності закупорюють пробками з резини та закривають алюмінієвими колпачками. Закупорені пляшечки перенаправляють на стерилізацію.

Стерилізація флаконів з розчином та перевірка на герметичність:

Здійснюють в автоклаві при температурі 120 °С протягом 30 хвилин. Після закінчення стерилізації проводять перевірку флаконів на герметичність за допомогою розчину метиленового синього. Ємності знаходяться у розчині 5-10 хвилин, після даної процедури розчин метиленового синього за допомогою насоса

повертається в ємність. Ємності з розчином кольору контрольної рідини, а також биті відбирають і проводять заходи для утилізації. Ємності, які відповідали всім вимогам при тестуванні, переходять на подальшу стадію.

Маркування та упакування флаконів:

Здійснюється на автоматичному пристрої. На флакон наліплюють етикетки з назвою препарату, зазначеним об'ємом препарату і номером серії. Упаковка флаконів з листком-вкладишем проводиться на столі для упаковки в пачку споживчої тари з картону. Крім того, наноситься необхідні позначення на пачку. Потім пачки упаковуються в тару для транспортування (коробки) і відправляють на карантинний склад і склад готової продукції.

8.4. Обґрунтування вибору підготовки води

Вода, яка відповідає всім вимогам і пройшла всі тести, переходить на наступний етап. Ця вода повинна бути стерильною і апірогенною, згідно із методами, викладеними в статтях "Стерильність" та "Пірогени" ДФУ. Водопідготовка води для ін'єкцій та води очищеної у промислових масштабах проходить у корпусних високопродуктивних апаратів, термокомпресійних дистилляторів різних конструкцій і установок зворотного осмосу. Як правило користуються триступінчастими колонними апаратами, де вода очищується від другого й третього корпусів.

Для захисту апірогенності отриманої води необхідно сконструювати усі механізми, які стануть на заваді потраплянню пірогенних речовин до дистилляту. Для цього використовують дистиляційні апарати відповідної конструкції, в яких відсутня можливість переходу крапельно-рідкої фази через конденсатор у збірник. Під час водопідготовки за допомогою знесолювання зменшується піноутворення і, тому знижується виділення краплин води в парову фазу.

Механізм очистки деіонізованої води включає кілька етапів, починаючи з фільтрації водопровідної води через фільтри для попередньої очистки від домішок. Далі застосовують спеціальні прилади, такі як "Milli RX-20" або "EPRO-450", для отримання деіонізованої води. Питомий опір контролюється

автоматичним датчиком, а отримана деіонізована вода збирається в спеціальний збірник.

Необхідно відзначити, що деіонізована вода, яка використовується для створення розчинів, упродовж 18 годин після отримання повинна реалізуватись у виробництві, а для інших процесів виробництва - не пізніше 3 днів.

8.5. Вибір технологічних стадій та операцій, обладнання

Обов'язкові додаткові заходи включають підготовку вентиляційного повітря та води після їх очищення. Для обслуговування промислової системи видалення забруднень з повітря необхідно встановлювати систему фільтрів після зниження температури повітря, яка приводить стан повітря до необхідної кондиції.

Перший фільтр, що використовується, - це фільтр тонкого очищення, і рекомендується обрати HEPA фільтр класу чистоти H14, що як правило виготовляється із скловолкна і має робочу температуру до 280 °C. Після HEPA фільтру рекомендується встановлювати ULPA фільтр, він видаляє пил, пилок, плісняву, бактерії та частинки розміром більше 0,12 мкм, тож ступінь чистоти вибирається за класом U16.

Для утворення очищеної води обумовлено встановлення двох фільтрів - піщаного і вугільного. Рекомендується обрати промисловий HDPE піщаний фільтр для пом'якшення води та відмітити його відповідність ISO9001. Фільтр вугільний складається з активованого вугілля з шкаралупи кокоса та вважається екологічним та добре затримує найдрібніші частинки у воді.

Оскільки обговорюється закупівля підготованих флаконів, механізм підготовки флаконів включає їх миття, сушіння та стерилізацію. Для поточних цілей можливо застосовувати готові автоматизовані лінії виробництва рідини для наповнення флаконів, які об'єднують ультразвукову мийну машину, сушильну машину для стерилізації RSM, машину для наповнення та закупорювання, і машину для закупорювання KFG/FG. Дана лінія працює як загальна система, так і автономно, здійснюючі необхідні операції, такі як ультразвукове миття, сушіння,

стерилізація, наповнення та закупорювання, яке необхідне для виконання критеріїв стерильності.



Рис.8.1. Автоматична установка для флаконів [110]

Для етикетування рекомендується вибрати лінію від компанії VKPAK. Продуктивність цієї машини може бути налаштована від 0 до 20 флаконів за одну хвилину. Перевагою цього пристрою є можливість використання різноманітних етикеток [110].



Рис.8.2. Етикувальна машина від VKPAK [110]

Лінія для упаковки JDZ-260P дозволяє автоматично упаковувати флакони в додаткову упаковку, що значно спрощує процес. Цей пристрій має продуктивність на рівні 20 коробок за хвилину.



Рис.8.3. Пакувальна машина JDZ-260P [111]

РОЗДІЛ 9
СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ПРИ ОДЕРЖАННІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Специфікацію обладнання, зображеного на апаратурній схемі (див. графічна частина), наведено у табл. 9.1.

Таблиця 9.1.

Специфікація ділянки виробництва лікарського засоба ногаломіцину

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
ПЗ - 1	Повітрозабірник	1	Оснащений металевою сіткою для вилучення механічних домішок.
Ф- 2	Фільтр грубої очистки повітря	1	Фільтр для грубого очищення G4. Розміри: 592 мм x 592 мм. Виробник: компанія "Alter Air" (Україна) ¹
К- 3	Компресор	1	Аерокомпресор Dnipro-M AC-9NL. Мотор потужністю 0,55 кВт. Продуктивність досягає 110 літрів за хвилину. Виробник: компанія "Dnipro-M" (Україна) ²
Т-4	Теплообмінник-охолоджувач	1	Теплообмінник DRAIN 2000K. Потужність двигуна – 0,5 кВт. Продуктивність – до 22,5 л/хв. Виробник: «EMMEGI» (Італія) ³
Ф-5	Фільтр тонкого очищення	1	Фільтр тонкої очистки класу H14. Розмір: 592мм x 592мм. Фільтруючий матеріал: мікроскловолокно. Ступінь очищення – більше 99,995%. Робоча температура до 100 °С. Виробник: "Технофільтр" (Україна) ⁴
Ф-6	Фільтр недефективного очищення	1	Фільтр ФяС-У класу U16. Фільтруючий матеріал: мікроскловолокно. Робоча температура до 80 °С. Ступінь очищення – більше 99,9999%. Виробник: "Фолтер-Україна" (Україна) ⁵
Ф-7	Піщаний фільтр	1	Піщаний фільтр. Продуктивність – 237 л/год. Резервуар оснащений нержавіючою сталлю. Виробник: «Huayu Factory» (Китай) ⁶
Ф-8	Фільтр вугільний	1	Фільтр для очищення води вугільний Ecosoft FPA1054CT має продуктивність 0,6 м ³ на годину. Розміри становлять 260 x 1580 мм, а робочий тиск досягає 3,5 бар. Виробник: "Ecosoft" (Україна) ⁷
3-9 3-13	Збірник на 250 л	2	Збірник об'ємом 250 літрів виготовлена із нержавіючої сталі AISI 316. Робочий тиск до 3 бар. Устаткована мішалкою та подвійною рубашкою. Виробник: «Промвіт» (Україна) ⁸

НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Дячина Ю.М.			РОЗДІЛ 9 СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ОДЕРЖАННІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Стабніков В.П.					68	101
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Н-10 Н-14 Н-16	Насос перистальтичний	3	Перистальтичний насос МР-6118.12 має продуктивність 226 літрів на годину, тиск досягає 1,4 бар, а потужність двигуна становить 0,09 кВт. Виробник: "DEBEM" (Італія) ⁹
Ф-11	Фільтр для пом'якшення води	1	Фільтр Atlas Filtri Jupiter 50 AVL 1 призначений для систем з продуктивністю до 2,1-2,5 м ³ на годину. Виготовник: "Atlas Filtri" (Італія) ¹⁰
УФ-12	Установка зворотнього осмосу	1	Обладнання для зворотного осмосу ECOSOFT MO 6500 має робочу продуктивність від 250 до 1000 літрів на годину. Корпус виготовлений із нержавіючої сталі AISI 304. Фільтрелемент має пори розміром 1 мікрон. Виробник: "ECOSOFT" (Україна) ¹¹
З-15	Реактор на 20 л	1	Реактор ROMM-20DJ об'ємом 20 л виготовлений з нержавіючої сталі та обладнаний мішалкою. Робочий температурний діапазон від -20 °С до +200 °С. Робочий тиск становить 3 бари. Габарити реактора (висота × діаметр) - 800×300 мм. Виробник: ГК "Тирит" (Китай) ¹⁸
А-17	Автоматична лінія для миття, сушки, стерилізації, наповнення, флаконів	1	Обладнання МУ-2 призначене для промивання, сушіння, наповнення та герметизації ампул. Продуктивність становить до 20 ампул за хвилину. Температура стерилізації може досягати 350 °С. Точність наповнення складає ±1%. Виробник: "Shanghai Marya" (Китай) ¹²
С-18	Стерилізатор прохідного типу	1	Автоклав для парової стерилізації ГПО-630 має об'єм камери 635 літрів. Максимальна температура стерилізації становить 250 °С. Виготовник: "Uoslab" (Україна) ¹³
І-19	Інспекційна машина для ампул	1	Машина для інспекції ампул і флаконів BOSCH KLD 1041 представляє собою автоматизовану лінію з контролем у чотирьох точках. Виготовник: "Bosch" (Німеччина) ¹⁴
Е-20	Етикувальна машина	1	Машина ВКРАК призначена для горизонтального наклеювання етикеток на циліндричні флакони та їх подальшого укладання в лоток. Це автоматизована лінія. Розміри (довжина × ширина × висота, мм): 1600×500×1550. Виробник: "ВКРАК" (Китай) ¹⁵
ПМ-21	Пакувальна та маркувальна машина	1	Автоматичний пристрій JDZ-260P призначений для упаковки ампул та флаконів. Максимальна продуктивність складає до 260 упаковок. Розміри (довжина × ширина × висота, мм): 4800×1600×1860. Виробник: "Hunan Grand Packing Machinery Co., Ltd" (Китай) ¹⁶
ГП - 22	Автомат групової упаковки	1	Установка для масової упаковки в картонні коробки VOX 20КТ виробництва компанії "Nomatech" (Чехія). Максимальна продуктивність - 20 коробок на хвилину ¹⁷

Примітка: 1- <https://shop.alterair.ua/>, 2- <https://dnipro-m.ua/>, 3- <https://motorimpex.ua/>, 4 - <https://tehnofilter.ub.ua/>, 5 - <https://folter.com.ua/>, 6 - <https://uk.hytank-export.com/>, 7 - <https://www.aquanova.com.ua/>, 8 - <https://promvit.com.ua/>, 9 - <https://pumpcentre.com.ua/>, 10 - <https://vencon.ua/>, 11 - https://aqua-life.ua, 12 - <https://www.marya.com.cn/> 13 - <https://uoslab.com/>, 14 - <https://intimac.it/>, 15 - <https://www.vkpak.com/>, 16 - <https://www.grand-packing.com/>, 17 - <https://gvp.com.ua/>

РОЗДІЛ 10

ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

ДР 1.1 Підготовка мийних та дезинфікуючих засобів

ДР 1.1.1 Приготування 0,5% мийного розчину каустичної соди

Виготовляється розчин каустичної соди з концентрацією 0,5%. Це здійснюється шляхом введення 50 г каустичної соди в рухому ємність об'ємом 10 літрів та додавання 10 літрів води.

ДР 1.1.2 Приготування дезинфікувального розчину Дегміну

Для щоденного прибирання потрібна кількість робочого розчину 0,5% дегміну має становити 20 л. З цією метою у рухому ємність об'ємом 30 л вносять 100 г препарату, додають 20 л питної води та перемішують до розчинення.

Для проведення генерального прибирання необхідно використовувати 25 літрів розчину. Для приготування одноразової дози мийного розчину, 125 г дегміну вводять у рухому емальовану ємність, додають 25 літрів питної води та перемішують до отримання робочого розчину.

ДР 1.2 Підготовка виробничих приміщень

ДР 1.2.1 Щоденне прибирання

По завершенні робочого дня щоденно проводиться прибирання, використовуючи розчин із ДР 1.1.2. Необхідно оглянути приміщення для перевірки наявності пилу та забруднень.

ДР 1.2.2 Генеральне прибирання

Це прибирання здійснюється по закінченню виробничого циклу, використовуючи розчин від ДР 1.1.2. Проводиться індивідуальна перевірка рівня мікробного забруднення поверхонь, де КУО (кількість умовно-патогенних організмів) повинна залишатися на рівні менше 1000.

					НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Вовк Т.А.</i>			РОЗДІЛ 10 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ІН'ЄКЦІЙНОГО ПРЕПАРАТУ НОГАЛОМІЦИНУ	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Скροцька О.І.</i>					71	101
<i>Реценз.</i>						Кафедра БТМ		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

ДР 1.3 Підготовка обладнання та комунікацій

ДР 1.3.1 Миття та ополіскування обладнання

Мийна рідина використовується для очищення обладнання та комунікацій (з ДР. 1.1.1). Технологія СІР використовуються для миття. Насос подає робочу рідину, а обладнання очищується відповідно до встановленого процесу: промивання триває 15 хвилин, очищення розчином займає 30 хвилин, а ополіскування проводиться протягом 15 хвилин. Промивна рідина використовується повторно для очищення наступного обладнання.

ДР 1.3.2 Технічний огляд

Після процедур миття та ополіскування резервуарного обладнання проводиться детальна перевірка на наявність потенційних порушень герметичності комунікацій та запірної арматури. У разі виявлення негерметичності комунікацій та запірної арматури, різьбові з'єднання затягуються.

ДР 1.3.3 Перевірка обладнання на герметичність

Закривають всі запірні крани накопичувача і наповнюють його повітрям до досягнення надлишкового тиску в межах $R = 0,1-0,2$ МПа. Після цього закривають кран подачі повітря, реєструють показання манометра на кришці пристрою та час витримки (30-60 хв) у спеціальному оперативному журналі. Якщо перепад тиску не перевищує 0,01 МПа, пристрій вважається герметичним.

ДР 1.3.4 Стерилізація обладнання

Розігрів приладу. Зверху в сорочку апарату подається пара і обладнання нагрівається до температури 80-90°C.

Стерилізація. Вся запірна арматура відкрита і подається гаряча пара. При досягненні в апараті температури стерилізації 130-135 °С. Усі штуцери, за винятком парових, закриваються, і система утримується під тиском 0,15 МПа протягом 1,5 годин. Охолодження. Закриваються всі вентилі, які перекривають

подачу пари до пристрою. Потім в сорочку подають холодну воду. Процес проводять до досягнення температури 30-40°C.

ДР 1.4 Підготовка персоналу

Навчання персоналу, а також санітарно-гігієнічне навчання проводяться у формі навчання правилам користування дезінфікуючими засобами для рук, мийним інвентарем, приміщеннями тощо.

ДР 2. Підготовка вентиляційного повітря

ДР 2.1. Забір повітря

Забір повітря завбачливо здійснюють у місці із найменшим забрудненням. Вентилятор через решітку на фасаді (ПЗ-1) всмоктує свіже повітря.

ДР 2.2. Грубе очищення повітря

Повітря, яке прибуває до цього етапу, проходить через фільтр грубої очистки, де основна частина пилу розміром 3-5 мікрон відділяється. Для цього використовуються роликові фільтри з промасленою сіткою (Ф-2). Даний механізм очищення повітря має ефективність більше ніж 90% і є відмінною ознакою якості.

ДР 2.3. Компресування повітря

На поточному етапі встановлюються турбокомпресори, за допомогою них повітря стискається відцентровою силою. Стискання повітря супроводжується його нагріванням до температури 90-100 °С (К-3). Тому потім повітря переміщається в кондиціонер для коректування термодинамічних показників.

ДР 2.4. Регуляція термодинамічних показників повітря

Повітря входить у кондиціонер (Т-4), де його температура знижується до показників кімнатного рівня, а волога конденсується. Потім охолоджене та висушене повітря подається в систему фільтрації, яка включає в себе фільтри тонкого і ультратонкого очищення.

ДР 2.5. Тонке очищення повітря

Механізм тонкого очищення повітря виконується із застосуванням гофрованих стільникових фільтрів (Ф-5). Ці фільтри мають значну ефективність,

ступінь очистки складає понад 99,995%. Фільтр тонкої очистки замінюють, коли він стає брудним.

ДР 2.6. Недефективне очищення повітря

На цьому кроці застосовують фільтри НЕРА (Ф-6), які усувають частинки розміром до 0,3 мікрона з повітря. Ефективність очищення повітря цими фільтрами перевищує 99,9999%.

ДР 3. Приготування води очищеної

ДР 3.1. Механічна фільтрація

Очищення водопровідної води від механічних домішок здійснюється на піщаних фільтрах (Ф-7), які забезпечують видалення більших частинок розміром 5 мкм.

ДР 3.2. Глибинна фільтрація

На цьому етапі вода очищається від механічних домішок розміром 1-3 мкм. Цей процес відбувається на вугільних фільтрах (Ф-8), які працюють паралельно або по черзі.

ДР 3.3. Пом'якшення води

Пом'якшення води здійснюється методом відстоювання. Іони магнію та кальцію перетворюються на важкорозчинні сполуки шляхом додавання у воду розрахункових кількостей гідрату оксиду кальцію, каустичної соди та кристалічного карбонату натрію (З-9). Після кількох годин взаємодії накопують сполук із зазначеними реагентами утворюються осади, які потім видаляють відстоюванням або фільтрацією (Ф-11). Для фільтрації можна використовувати піщані фільтри.

ДР 3.4. Зворотній осмос

Потім отриману воду пропускають через напівпроникну мембрану під впливом зовнішнього тиску. Робочий надлишковий тиск розчину солі значно перевищує осмотичний тиск. Зворотньоосмотична установка зазвичай складається з насоса високого тиску, пермеатора (мембранної установки) і блоку управління, що підтримує оптимальний режим роботи (УФ-12). В оптимальних установках

вихід пермеату становить близько 75% вихідної води, утвореного концентрату – 25%.

ДР 3.5. Зберігання води очищеної

З установки, отримання води очищеної (УФ-12), вода очищена поступає в ємкість (З-13), де зберігається при температурі $58 \pm 3^\circ\text{C}$. З ємкості вода очищена розподіляється за допомогою насоса (Н-14).

ДР 4. Підготовка розчину для наповнення

До одержання колоїдного розчину срібла в асептичних умовах до реактора на 20 л (З-15) подається полівінілпіролідон (PVP): ПВП є безпечним стабілізатором, який широко використовується у фармацевтиці. Він добре стабілізує наночастинки срібла та має низьку токсичність, далі досипають наночастинки срібла, доливають 15 л води очищеної. Все перемішують та передають на стадію заповнення флаконів.

ДР 5. Підготовка флаконів

ДР 5.1. Миття флаконів

Флакони, отримані зі складу, спочатку візуально перевіряються. Під час перевірки флакони, флакони які не відповідають критеріям, викидаються. Решту флаконів поміщають на лоток у підготовлену автоматичну лінію підготовки флаконів (А-17).

Гвинтовий конвеєр машини безперервно збирає флакони з лотка і передає їх на горизонтальний барабан з блістерами. Флакони занурюють у гарячу водяну баню з ультразвуковим пристроєм для промивання зовнішніх і внутрішніх поверхонь ампул водою при температурі $60 \pm 5^\circ\text{C}$.

Потім ампули переносяться в пральну машину, де чиста вода, відфільтрована через вбудований фільтр, тричі впорскується через голку.

Очищені флакони поміщають у дренажний бункер пральної машини, звідки вони потрапляють у тунель для сушіння та стерилізації.

ДР 5.2. Сушка і стерилізація флаконів

Очищені флакони потрапляють у сушильно-стерилізаційний тунель, де вони висушуються і стерилізуються при температурі 320°C протягом 30 хвилин. На виході флакони охолоджують на повітрі до 20-25 °С. Чисті та сухі флакони виймаються з тунелю і подаються на стрічку машини для наповнення та закупорювання.

ТП 6. Наповнення та закупорювання флаконів

Дозуючий насос і голка для наповнення розбираються, промиваються водою для ін'єкцій, поміщаються в медичний стерилізатор і стерилізуються в автоклаві при 120°C, 0,11 МПа протягом 45 хвилин.

Стерильний дозуючий насос під'єднують до стерильної силіконової трубки, збирають та встановлюють в розливно-дозуючу машину (А-17). Пристрій для збору розчину (З-15) під'єднують до силіконової всмоктувальної трубки, відкривають клапан за допомогою пристрою для збору розчину, після чого вмикають машину.

Чисті та сухі флакони подаються на вісім пунктів очищення азотом, потім на п'ять пунктів наповнення розчином, п'ять пунктів наповнення азотом і п'ять пунктів закупорювання флаконів. Розчин наночастинок подається до вищезазначених п'яти точок розливу розчину за допомогою машини для розливу та дозування.

Після заповнення флакони закупорюються. Потім перевіряється якість герметизації. Під час процесу герметизації контролюється тиск газу (0,01-0,07 МПа), кисню (0,01-0,07 МПа) і азоту (0,3 МПа).

Заповнені та закупорені флакони збирають в касети та відправляються на стерилізацію разом з відповідними ідентифікаційними картками.

ТП 7. Стерилізація та перевірка флаконів з наночастинками на герметичність і контроль на механічні включення

ТП 7.1. Стерилізація флаконів з наночастинками

Заповнені та запаяні картриджі з флаконами поміщають на візок і поміщають в стерилізатор (С-18). Флакони стерилізували при температурі $110 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$

протягом 60 хвилин. Після завершення програми стерилізації активується програма перевірки флаконів на герметичність.

У стерилізаційній камері створювався вакуум 0,053-0,04 МПа. У стерилізаційну камеру через дозатор подавали концентрований метиленовий синій, що входить до складу стерилізаційного набору. Концентрат подається в стерилізаційну камеру з розрахунку концентрації 0,005 % розчину метиленового синього. Стерилізаційна камера заповнюється до країв за допомогою подачі очищеної води з насоса (Н-14). Після відстоювання протягом 3-5 хвилин використаний 0,005% розчин метиленового синього зливається самопливом у вихлопну систему.

Потім у стерилізатор подається деіонізована вода з резервуара рекуперації для миття флаконів (С-13). Після очищення ампул вода зливається у вихлопну систему.

Після перевірки герметичності флаконів відбирають проби для визначення рН розчину, вмісту наночасинок срібла, стерильності препарату, токсичності та пірогенності. Протягом періоду аналізу флакони зберігалися в карантинному сховищі або на карантинній станції в оригінальних лікарських умовах. Картриджі з ампулами відправляються до ТП 7.2 з відповідними ідентифікаційними картками для виявлення механічних включень.

ТП 7.2. Контроль на механічні включення

Контроль здійснюють на автоматизованій лінії інспекторської машини перевірки флаконів І-19 за 4 контрольними точками. Флакони, що пройшли контроль, збирають у лотки з відповідною ідентифікаційною картою і направляють на стадію на ПМВ 8.

ПМВ 8. Маркування та пакування

ПМВ 8.1. Маркування ампул

Флакони злотка в ручну подаються в бункер Е-20. Коли стрічка етикеток проходить через друкарський пристрій, на етикетці друкується номер партії та термін придатності. Машина автоматично маркує флакони.

ПМВ 8.2. Пакування флаконів в пачку

Налагоджується машина для виробництва та наповнення гофротари ПМ-21 із дотриманням вказівок із експлуатаційної інструкції.

Завантажується пакунок та кладуться листи-вкладиші в приймальний пристрій. Присвоюється формувальному механізму машини набір чисел, що складається з номера партії та терміну придатності. Повинен бути передбачений ніж для відкриття флаконів. Коробки з флаконами транспортуються конвеєром до штампувальної машини.

ПМВ 8.3. Пакування пачок з флаконами в групову упаковку

Поміщаються порожні коробки в машину (ГП-22) і вмикається живлення. Ящики з упаковкою конвеєром подаються на пакувальний стіл. Коробки заклеюються скотчем і наклеюються групові етикетки. Номер партії та термін придатності наносяться вручну.

При отриманні позитивних результатів вимогам АНД та відповідності всіх результатів аналізу досьє серії, оформляється сертифікат якості та дозвіл на реалізацію. Потім усі партії продукції позначаються зеленою карткою "Дозволено до реалізації". Готова продукція передається на складське приміщення для зберігання і відправляється споживачам.

РОЗДІЛ 11

ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД

Склад:

Діюча речовина: наночастинки срібла

Допоміжна речовина: вода очищена

Стабілізатор: полівінілпіролідон

Форма випуску. Колоїдний розчин

Ця аналітично нормативна документація поширюється на колоїдний розчин наночастинок срібла у флаконах.

СПЕЦИФІКАЦІЯ

Таблиця 11.1

Найменування показника	Допустимі межі	Методи контролю [8]
Опис	Прозора рідина	За п.1 СП, візуально
Ідентифікація	Мікроскопічно мають виявлятися наночастинки срібла	За п.2 СП, ДФУ 2.2.27
Вміст одного флакону	Не менше від заявленого об'єму	За п.3 СП
pH	Від 5 до 6	За п.4 СП, ДФУ 2.2.3
Супровідні домішки	Сума будь-яких додаткових домішок: не більше 8.0 %;	За п.5 СП, ДФУ 2.2.29
Стерильність	Має відповідати вимогам стерильності	За п.6 СП, ДФУ 2.6.1
Кількісне визначення	Вміст наночастинок 10 мкг / мл	За п.7 СП, ДФУ 2.2.29
Механічні включення: невидимі частинки	Середня концентрація частинок в одиницях випробувань не перевищує 6000 в 1 контейнері для частинок розміром 10 мкм або більше і 600 в 1 контейнері для частинок розміром 25 мкм або більше	За п.8 СП, ДФУ 2.9.19
Упаковка	У герметично закритих флаконах. По 1 флакону разом з інструкцією для застосування поміщають у пачку із картону для споживчої тари.	
Маркування	Згідно затвердженого тексту маркування	
Термін придатності	2 роки	
Умови зберігання	Сухе темне місце при температурі від +5 до +25°C.	

					НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Вовк Т.А.				РОЗДІЛ 11 ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.	Скороцька О.І.						79	101
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.							

1. Основні фізико-хімічні властивості: прозора світло-жовта рідина.

2. Ідентифікація.

Одними з основних методів ідентифікації наночастинок срібла є електронна мікроскопія.

Підготовка зразка колоїдного розчину срібла для електронної мікроскопії об'єднує декілька кроків. Нижче наведено загальну методику для підготовки зразків:

Очищення зразка: Переконайтесь, що зразок колоїдного срібла чистий і не містить інших домішок або забруднень, що здатні впливати на якість мікроскопічних зображень.

Підготовка підложки: Виберіть підложку для закріплення наночастинок срібла. Зазвичай використовують кремнієві пластини або сілікагелю. Підложка повинна бути чистою і гладкою.

Додавання зразка: Нанесіть невелику кількість колоїдного срібла на підложку. Можна використовувати піпетку для цього.

Висушування: Дайте зразку висохнути на повітрі. Цей крок допомагає забезпечити адгезію наночастинок до підложки.

Фіксація: Для фіксації наночастинок на підложці можна використовувати фіксативи, такі як глітаральдегід або осміїна тетроксид. Дотримуйтесь інструкцій і стандартних протоколів для фіксації.

Підготовка до електронної мікроскопії: Після фіксації зразок готовий для подальших процедур електронної мікроскопії. Зазвичай це включає в себе ультратонке розрізання зразка на відрізки, що подають в електронний мікроскоп.

Електронна мікроскопія: Охарактеризуйте отримані зображення для ідентифікації наночастинок срібла та дослідження їхньої структури, розмірів та морфології.

3. Вміст одного флакону.

Відбирають 30 флаконів.

Струшують вміст кожного з 10 флаконів, обережно, щоб уникнути утворення повітряних бульбашок, виливають вміст кожного флакону в окремі сухі мірні, калібровані циліндри, місткість яких не більше ніж в 2,5 рази більше вимірюваного об'єму. Вмісту кожного флакону дають стікати протягом не більше 30 хв для недозованих препаратів. Після зникнення повітряних бульбашок вимірюють об'єм рідини в кожному циліндрі.

Лікарський препарат вважається таким, що пройшов перевірку, коли середнє арифметичне об'єму вмісту 10 флаконів не менше 100%, і жоден з флаконів не повинен мати об'єм менш 95% від зазначеного на етикетці.

У випадку коли середнє арифметичне об'єму вмісту 10 флаконів менше 100% від зазначеного на етикетці, але жоден з флаконів не має об'єм менше 95% або середнє значення об'єму вмісту 10 флаконів становить 100% і обсяг не більше ніж одного флакону менше 95%, але не менше 90% від зазначеного на етикетці, то виконують випробування на 20 додаткових флаконах.

Середнє значення об'єму вмісту 30 флаконів повинна становити не менше 100% від об'єму, зазначеного на етикетці, і об'єм не більше ніж одного з 30 флаконів може бути менше 95%, але не менше 90% від зазначеного на етикетці.

4. рН. рН – параметр, що визначає приблизну концентрацію іонів водню в водних розчинах, зазвичай експериментально визначається. Залежність рН тестованого розчину встановлюється у зв'язку з рН стандартного розчину (рН_S) за допомогою такого рівняння:

$$pH = pH_S - \frac{E - E_S}{k},$$

У вищезазначеній формулі:

E представляє потенціал електрода у тестовому розчині, вимірюваний у вольтах;

E_S вказує на потенціал того самого електрода у розчині із відомим рН (рН_S), також вимірюється у вольтах;

k – температурний коефіцієнт, що показує, зміну потенціалу коли рН змінюється на одиницю. Цей коефіцієнт вимірюється у вольтах і розраховується згідно з рівнянням Нернста

Значення k при різних температурах

Температура (°C)	k (V)
15	0.0572
20	0.0582
25	0.0592
30	0.0601
35	0.0611

Знаходження значення рН за допомогою потенціометра проводиться методом виміру різниці потенціалу поміж двох відповідних електродів, поглибленими в досліджуваний розчин: один із електродів чутливий до іонів водню (зазвичай скляний електрод), а інший – електрод порівняння (каломельний електрод).

Процедура вимірювань виконується при постійній температурі в межах від 20 °C до 25 °C, якщо інше не передбачено у відповідних інструкціях. При необхідності враховують температурні уточнення відповідно до вказівок виробника. Апарат калібрується за підтримки буферного розчину калію гідрофталату (первинний стандарт) і одного з буферних розчинів із відомим показником рН. Показники приладу для третього буферного розчину з проміжним значенням рН повинні відхилитись не більше, ніж на 0.05 одиниць рН від даних у таблиці рН цього розчину. Електроди опускають у досліджуваний розчин і знаходять рН за тими ж умовами, що й для буферних розчинів.

За умови регулярного використання прилад калібрують періодично. В іншому випадку калібрування слід виконати перед кожним вимірюванням. Усі тестирувані розчини і стандартні буферні розчини повинні бути приготовані на воді, яка вільна від діоксиду вуглецю.

5. Супровідні домішки (рідинна хроматографія).

Для ідентифікації та аналізу супровідних домішок в колоїдному розчині наночастинок срібла можна використовувати рідинну хроматографію. Даний підхід дає можливість відокремити компоненти розчину за їхньою хімічною природою і визначити, які домішки присутні в колоїдному розчині разом з

наночастинками срібла. Ось загальна методика для проведення рідинної хроматографії:

Підготовка зразка: Переконайтесь, що ваш колоїдний розчин срібла готовий до аналізу. Він повинен бути чистим та готовим для впровадження в хроматограф.

Вибір хроматографічного методу: Визначте, який метод хроматографії ви будете використовувати. Зазвичай в рідинній хроматографії використовуються методи, такі як високошвидкісна рідинна хроматографія (HPLC) або колоїдна хроматографія.

Підготовка хроматографічної системи: Встановіть хроматографічну колонку та підготуйте робочий розчин, який включає розчин зразка колоїду срібла.

Розділення компонентів: Запустіть розчин зразка через хроматограф і спостерігайте, як компоненти розділяються на основі їхньої хімічної взаємодії зі стовпцем та стаціонарною фазою.

Детектування домішок: Використовуйте детектор хроматографа для виявлення домішок, які можуть присутні в колоїдному розчині разом із сріблом.

Ідентифікуйте та кількісно оцініть знайдені домішки.

Аналіз результатів: Обробіть отримані дані та скористайтесь їх для ідентифікації та кількісного визначення супровідних домішок у колоїдному розчині наночастинок срібла.

6. Перевірка стерильності.

Для перевірки стерильності використовується метод мембранної фільтрації, під час якого використовують мембранні фільтри з номінальним розміром пор не більше 0.45 мкм. Ці фільтри ефективно утримують мікроорганізми. Для водних, розведених спиртових розчинів та розчинів в оліях можуть використовуватися, наприклад, целюлозно-нітратні мембранні фільтри, а для концентрованих спиртових розчинів - целюлозно-ацетатні мембранні фільтри. Діаметр мембранних фільтрів становить приблизно 50 мм. У разі використання мембранних фільтрів іншого діаметру, об'єм розчинника та промивальної рідини

змінюють відповідно. Фільтраційну установку та мембранні фільтри стерилізують відповідним способом.

Конструкція фільтраційної установки повинна забезпечувати асептичні умови при внесенні та фільтрації лікарського засобу, а також під час видалення мембранного фільтра для переносу його у живильне середовище. Також, вона може дозволяти проводити інкубацію посівів безпосередньо у самій установці після додавання в неї живильного середовища.

Перед початком випробування рекомендується пропустити через мембранний фільтр невелику кількість підходящого стерильного розчинника, наприклад, нейтрального розчину 1 г/л м'ясного або казеїнового пептону з рН 7.1 ± 0.2 . Розчинник може містити відповідні нейтралізатори та/або інактиватори, наприклад, при випробуванні антибіотиків.

Вміст контейнера(ів) із випробуваним зразком переносять на мембранний фільтр або мембранні фільтри. Якщо необхідно, попередньо доводять об'єм зразка до потрібного об'єму стерильним розчинником. Після цього фільтрують зразок. Якщо лікарський засіб має антимікробну активність під час випробування, мембранний фільтр відмивають не менше трьох разів, проходячи через нього кожного разу той самий об'єм відповідного стерильного розчинника, як і при перевірці методики. Загальний об'єм промивної рідини не повинен перевищувати п'ять порцій по 100 мл на один мембранний фільтр, навіть якщо при перевірці методики було встановлено, що такий режим відмивання мембранних фільтрів не дозволяє повністю усунути антимікробну активність лікарського засобу. Після відмивання мембранний фільтр переносять в живильне середовище або розрізають на дві рівні частини, кожену з яких поміщають в відповідне живильне середовище. Використовують ті самі кількості живильного середовища, як і при перевірці методики. При використанні установки закритого типу живильне середовище вносять безпосередньо в установку. Посіви інкубують протягом не менше 14 днів.

7. Кількісне визначення.

Для кількісного визначення вмісту наночастинок срібла в колоїдному розчині, вам зазвичай знадобляться аналітичні методи та обладнання, такі як атомно-абсорбційна спектроскопія (AAS), індуктивно зв'язана плазма-масспектрометрія (ICP-MS). Ось загальна методика для визначення вмісту наночастинок срібла у колоїдному розчині за нормою 10 мкг/мл:

Підготовка стандартного розчину: Підготуйте стандартний розчин срібла із відомою концентрацією, наприклад, 10 мкг/мл. Використовуйте солі срібла, які легко розчиняються в розчинниках.

Підготовка пробного розчину: Розведіть колоїдний розчин срібла так, щоб його концентрація була в межах 1-10 мкг/мл. Важливо забезпечити, що розчин стабільний та однорідний.

Застосування аналітичного методу: AAS або ICP-MS:

Перенесіть пробний розчин у спеціальний апарат для атомно-абсорбційної спектроскопії (AAS) або індуктивно зв'язаної плазми-мас-спектрометрії (ICP-MS).

Завантажте стандартний розчин із відомою концентрацією, а також пробний розчин у прилад.

Виміряйте поглинання або інтенсивність сигналу срібла та визначте його концентрацію в пробному розчині.

8. Механічні включення: невидимі частинки.

Для перевірки наявності механічних включень важливо створити умови, що убезпечують відсутність забруднень, найкраще це робити в області ламінарного потоку повітря. Скляний посуд та фільтраційне обладнання, за винятком мембранних фільтрів, обережно очищають за допомогою теплового розчину миючого засобу, а потім обполіскують водою для видалення слідів миючого засобу. Обладнання обережно промивають ззовні та всередині для видалення частинок.

Уникайте утворення бульбашок повітря у випробовуваному зразку, особливо під час перенесення проби до посудини для вимірювань. Для перевірки

відповідності умов випробування вимогам і якості очищення скляного посуду та води проводиться випробування, яке включає оцінку кількості механічних включень у п'яти пробах води, вільної від частинок Р (кожна по 5 мл) за методикою, описаною нижче. Якщо у 25 мл об'єднаної проби кількість частинок розміром 10 мкм або більше перевищує 25, то заходи для видалення забруднень виявляються недостатніми.

Процедура випробування включає перемішування вмісту зразка, обережно перевертаючи контейнер 20 разів. Після цього зовнішні поверхні контейнера очищають, усувають упаковку, а для видалення бульбашок повітря використовується відстоювання розчину протягом 2 хвилин або обробка ультразвуком.

Для лікарських засобів для перорального застосування великих об'ємів випробовують окремі дозовані одиниці. Для лікарських засобів для перорального застосування малих об'ємів менше 25 мл об'єднують 10 або більше дозованих одиниць у чистому контейнері для отримання об'єму не менше 25 мл. Випробування може бути проведено індивідуально, якщо вміст 25 мл або більше.

Кількість випробуваних зразків повинна бути достатньою для статистично обґрунтованої оцінки. Для лікарських засобів для перорального застосування великих або малих об'ємів із вмістом 25 мл або більше може бути випробувано менше 10 дозованих одиниць із використанням підходящого плану відбору проб. Перепарат вважається відповідаючим вимогам, якщо середня кількість частинок в випробуваних одиницях не перевищує 6000 в 1 контейнері для частинок розміром 10 мкм або більше і не перевищує 600 в 1 контейнері для частинок розміром 25 мкм або більше.

Дія активних компонентів: Колоїдне срібло виявляє високу ефективність проти більше ніж 350 видів мікроорганізмів, які можуть бути шкідливими для людини, при цьому не проявляючи токсичної дії на організм. Цей продукт відзначається вираженою бактерицидною дією. Його іони, проникаючи в атипову

клітину, блокують постачання поживних речовин вірусу, що сприяє загибелі хворої клітини. Важливо відзначити, що срібло не впливає негативно на здорові клітини, тобто, вбиваючи патогенні бактерії, воно залишається безпечним для мікрофлори організму.

Характерні протизапальні властивості срібла проявляються при його взаємодії з ураженими тканинами. У разі потрапляння срібла в гнійну рану воно взаємодіє з тканинними білками, утворюючи захисний шар, що оточує нервові закінчення і запобігає їх роздратуванню. Дія срібла сприяє швидкому очищенню рани від некротичних мас, що запобігає розвитку різних патологій і прискорює процес заживлення тканин. Колоїдне срібло ефективно використовується при захворюваннях шлунково-кишкового тракту, харчовому отруєнні, деяких шкірних висипаннях, таких як псоріаз, алергічний дерматит, і запальних процесах у суглобах.

Срібло є важливим мікроелементом, необхідним для нормального функціонування організму людини. Зокрема, його великою мірою потребують мозок, залози внутрішньої секреції, печінка, нирки та кістки. Цей елемент активно взаємодіє в обмінних процесах організму, сприяє синтезу різних важливих ферментів і вітамінів, і сприяє енергетичному обміну. Додатково, срібло допомагає у процесі підвищення рівнів гемоглобіну, лімфоцитів і еритроцитів.

Не містить штучних компонентів, консервантів чи добавок. Нетоксичне та не призводить до звикання чи виникнення побічних ефектів. Спосіб застосування. Перорально.

Рекомендації щодо використання: для дорослих рекомендується приймати від 1/2 до 1 чайної ложки розчину щоденно за 30 хвилин до прийому їжі, перед тим розведеного в склянці води. Для дітей рекомендована доза становить від 1/4 до 1/2 чайної ложки один раз на день. Тривалість курсу прийому - 10 днів.

Обмеження та протипоказання. Важливо! Не рекомендується вживати вагітним жінкам, годуючим матерям, а також людям, які мають схильність до

алергії на слідові мінерали. Перед використанням рекомендується звернутися до лікаря і утримуватися від передозування.

Терміни зберігання. Зберігати в сухому, недоступному для дітей місці, при температурі не вище 25 ° С, термін придатності 2 роки з дати виготовлення.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Противірусна активність наночастинок металів: погляд на проблему [Електронний ресурс] /І. С. Чекман, В. Ф. Марієвський, С. Л. Рибалко [та ін.] //Укр. мед. часопис. – 2015. – Режим доступу : <http://www.umj.com.ua/article/83555/protivirusna-aktivnist-nanochastinok-metaliv-poglyad-na-problemu>.
2. Adesanmi, Bukola, Eric S. McLamore, and Sherine O. Obare. "Synthesis of Silver Nanoparticles." (2022).
3. Akintelu, Sunday Adewale, Yao Bo, and Aderonke Similoluwa Folorunso. "A review on synthesis, optimization, mechanism, characterization, and antibacterial application of silver nanoparticles synthesized from plants." *Journal of Chemistry* 2020 (2020): 1-12.
4. Alamri SAM, Hashem M, Nafady NA, Sayed MA, Alshehri AM, El-Alshaboury GA. Controllable biogenic synthesis of intracellular silver/silver chloride nanoparticles by *Meyerozyma guilliermondii* KX008616. *J Microbiol Biotechnol.* 2018 Jun 28;28(6):917-930. doi: 10.4014/jmb.1802.02010. PMID: 29847861
5. Anees Ahmad, S.; Sachi Das, S.; Khatoon, A.; Tahir Ansari, M.; Afzal, M.; Saquib Hasnain, M.; Kumar Nayak, A. Bactericidal Activity of Silver Nanoparticles: A Mechanistic Review. *Mater. Sci. Energy Technol.* 2020, 3, 756–769. <https://doi.org/10.1016/j.mset.2020.09.002>
6. Argueta Figueroa L., Arenas-Arrocena M.C., Díaz-Herrera A.P., García-Benítez S.V., García-Contreras R. Propiedades antimicrobianas y citotóxicas de un adhesivo de uso ortodóncico adicionado con nanopartículas de plata. *Mundo Nano. Rev. Interdiscip. Nanocienc. Nanotecnol.* 2018;12:1. doi: 10.22201/ceiich.24485691e.2019.22.62550.
7. Arif, R.; Uddin, R. A Review on Recent Developments in the Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Its Biomedical Applications. *Med. Devices Sens.* 2021, 4, 10158. <https://doi.org/10.1002/mds3.10158>

8. Amendola V, Guadagnini A, Agnoli S, Badocco D, Pastore P, Fracasso G, Gerosa M, Vurro F, Busato A, Marzola P. Polymer-coated silver-iron nanoparticles as efficient and biodegradable MRI contrast agents. *J Colloid Interface Sci.* 2021 Aug 15;596:332-341. doi: 10.1016/j.jcis.2021.03.096. Epub 2021 Mar 19. PMID: 33839358.
9. Baltazar-Encarnación, Esther, et al. "Silver nanoparticles synthesized through green methods using *Escherichia coli* top 10 (Ec-Ts) growth culture medium exhibit antimicrobial properties against nongrowing bacterial strains." *Journal of Nanomaterials* 2019 (2019).
10. Betts J.W., Hornsey M., La Ragione R.M. *Novel Antibacterials: Alternatives to Traditional Antibiotics*. 1st ed. Volume 73. Elsevier Ltd.; Amsterdam, The Netherlands: 2018.
11. Burdușel AC, Gherasim O, Grumezescu AM, Mogoantă L, Ficai A, Andronescu E. Biomedical Applications of Silver Nanoparticles: An Up-to-Date Overview. *Nanomaterials (Basel)*. 2018 Aug 31;8(9):681. doi: 10.3390/nano8090681. PMID: 30200373; PMCID: PMC6163202.
12. Bruna T, Maldonado-Bravo F, Jara P, Caro N. Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Applications. *Int J Mol Sci.* 2021 Jul 4;22(13):7202. doi: 10.3390/ijms22137202. PMID: 34281254; PMCID: PMC8268496.
13. Chan W. C. Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection. *Science*. 1998. Vol. 281, no. 5385. P. 2016—2018.
14. Cheng G., Dai M., Ahmed S., Hao H., Wang X., Yuan Z. Antimicrobial drugs in fighting against antimicrobial resistance. *Front. Microbiol.* 2016;7:470. doi: 10.3389/fmicb.2016.00470.
15. Cui D. et al. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology / Effects of Antisense-Myc-Conjugated Single-Walled Carbon Nanotubes on HL-60 Cells*. 2017. Vol. 7, no. 4. P. 1639—1646.

16. Curulli A. Nanomaterials in Electrochemical Sensing Area: Applications and Challenges in Food Analysis. *Molecules*. 2020 Dec 7;25(23):5759. doi: 10.3390/molecules25235759. PMID: 33297366; PMCID: PMC7730649.
17. Das, V.L., Thomas, R., Varghese, R.T. et al. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by the *Bacillus* strain CS 11 isolated from industrialized area. *3 Biotech* 4, 121–126 (2014). <https://doi.org/10.1007/s13205-013-0130-8>
18. Dakal TC, Kumar A, Majumdar RS, Yadav V. Mechanistic Basis of Antimicrobial Actions of Silver Nanoparticles. *Front Microbiol*. 2016 Nov 16;7:1831. doi: 10.3389/fmicb.2016.01831. PMID: 27899918; PMCID: PMC5110546.,
19. Damle A, Sundaresan R, Rajwade JM, Srivastava P, Naik A. A concise review on implications of silver nanoparticles in bone tissue engineering. *Biomater Adv*. 2022 Oct;141:213099. doi: 10.1016/j.bioadv.2022.213099. Epub 2022 Sep 5. PMID: 36088719.
20. Durán N, Nakazato G, Seabra AB. Antimicrobial activity of biogenic silver nanoparticles, and silver chloride nanoparticles: an overview and comments. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016 Aug;100(15):6555-6570. doi: 10.1007/s00253-016-7657-7. Epub 2016 Jun 11. PMID: 27289481.
21. Ferdous Z., Nemmar A. Health impact of silver nanoparticles: A review of the biodistribution and toxicity following various routes of exposure. *Int. J. Mol. Sci*. 2020;21:2375. doi: 10.3390/ijms21072375.
22. Ficai A., Grumezescu A. M. (ed.). *Nanostructures for Antimicrobial Therapy*. – Elsevier, 2017.
23. Gaurav Sharma, Nakuleshwar Dut Jasuja, Manoj Kumar, Mohammad Irfan Ali, "Biological Synthesis of Silver Nanoparticles by Cell-Free Extract of *Spirulina platensis*", *Journal of Nanotechnology*, vol. 2015, Article ID 132675, 6 pages, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/132675>

24. Guilger-Casagrande M, de Lima R. Synthesis of Silver Nanoparticles Mediated by Fungi: A Review. *Front Bioeng Biotechnol.* 2019 Oct 22;7:287. doi: 10.3389/fbioe.2019.00287. PMID: 31696113; PMCID: PMC6818604.
25. Ge L., Li Q., Wang M., Ouyang J., Li X., Xing M.M.Q. Nanosilver particles in medical applications: Synthesis, performance, and toxicity. *Int. J. Nanomed.* 2014;9:2399–2407. doi: 10.2147/IJN.S55015.
26. Han, Lina, et al. "Invertebrate water extracts as biocompatible reducing agents for the green synthesis of gold and silver nanoparticles." *Natural Product Communications* 8.8 (2013): 1934578X1300800830.
27. Hamouda, R.A.; Abd El-Mongy, M.; Eid, K.F. Comparative Study between Two Red Algae for Biosynthesis Silver Nanoparticles Capping by SDS: Insights of Characterization and Antibacterial Activity. *Microb. Pathog.* 2019, 129, 224–232. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.016>
28. Hasan S. A review on nanoparticles: their synthesis and types //Res. J. Recent Sci. – 2015. – T. 2277. – C. 2502.
29. Hasan A, Morshed M, Memic A, Hassan S, Webster TJ, Marei HE. Nanoparticles in tissue engineering: applications, challenges and prospects. *Int J Nanomedicine.* 2018 Sep 24;13:5637-5655. doi: 10.2147/IJN.S153758. PMID: 30288038; PMCID: PMC6161712
30. Helmlinger, J., et al. "Silver nanoparticles with different size and shape: equal cytotoxicity, but different antibacterial effects." *RSC advances* 6.22 (2016): 18490-18501.
31. Hossain, A., Hong, X., Ibrahim, E., Li, B., Sun, G., Meng, Y., ... & An, Q. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles with culture supernatant of a bacterium *Pseudomonas rhodesiae* and their antibacterial activity against soft rot pathogen *Dickeya dadantii*. *Molecules*, 24(12), 2303.
32. Huq, Md Amdadul, and Shahina Akter. "Bacterial mediated rapid and facile synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial efficacy against pathogenic microorganisms." *Materials* 14.10 (2021): 2615.

33. Huq, Md Amdadul, et al. "Green synthesis and potential antibacterial applications of bioactive silver nanoparticles: A review." *Polymers* 14.4 (2022): 742.
34. Javani, Siamak, et al. "Four psychrophilic bacteria from Antarctica extracellularly biosynthesize at low temperature highly stable silver nanoparticles with outstanding antimicrobial activity." *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 483 (2015): 60-69.
35. Jacob, Jaya Mary, et al. "Microalgae: A prospective low cost green alternative for nanoparticle synthesis." *Current Opinion in Environmental Science & Health* 20 (2021): 100163.
36. Jin, J.; Wu, Y.; Liang, L.; Wei, Y.; Zheng, X.; Chen, Y. Altering Silver Nanoparticles-Induced Inhibition to Bacterial Denitrification via Visible Light by Regulating Silver Transformation and Adaptive Mechanism under Anaerobic Conditions. *Chem. Eng. J.* 2023, 452, 139268. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.139268>.
37. Kakakhel, Mian Adnan, et al. "Green synthesis of silver nanoparticles and their shortcomings, animal blood a potential source for silver nanoparticles: A review." *Journal of Hazardous Materials Advances* 1 (2021): 100005.
38. Kalwar, K.; Shan, D. Antimicrobial Effect of Silver Nanoparticles (AgNPs) and Their Mechanism—A Mini Review. *Micro Amp. Nano Lett.* 2018, 13, 277–280. <https://doi.org/10.1049/mnl.2017.0648>
39. Langopati N., Gotau M.A., Tsoukleris G., Pavlatau E.A. Biogenic synthesis of silver nanoparticles with antimicrobial properties. *Nanomed. Nanotechnol.* 2020;5:1–12. doi: 10.23880/nnoa-16000185.
40. Lee N.Y., Ko W.C., Hsueh P.R. Nanoparticles in the treatment of infections caused by multidrug-resistant organisms. *Front. Pharmacol.* 2019;10:1153. doi: 10.3389/fphar.2019.01153.
41. Lee SH, Jun B-H. Silver Nanoparticles: Synthesis and Application for Nanomedicine. *International Journal of Molecular Sciences.* 2019; 20(4):865. <https://doi.org/10.3390/ijms20040865>

42. Liliana Serwecińska "Antimicrobials and Antibiotic-Resistant Bacteria: A Risk to the Environment and to Public Health" *Water* 12, no. 12 (2020): -. doi: 10.3390/w12123313
43. Liu, X.; Chen, J.-L.; Yang, W.-Y.; Qian, Y.-C.; Pan, J.-Y.; Zhu, C.-N.; Liu, L.; Ou, W.-B.; Zhao, H.-X.; Zhang, D.-P. Biosynthesis of Silver Nanoparticles with Antimicrobial and Anticancer Properties Using Two Novel Yeasts. *Sci. Rep.* 2021, 11, 15795. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95262-6>
44. Liu S, Phillips S, Northrup S, Levi N. The Impact of Silver Nanoparticle-Induced Photothermal Therapy and Its Augmentation of Hyperthermia on Breast Cancer Cells Harboring Intracellular Bacteria. *Pharmaceutics*. 2023; 15(10):2466. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15102466>
45. Loo YY, Rukayadi Y, Nor-Khaizura MA, Kuan CH, Chieng BW, Nishibuchi M, Radu S. In Vitro Antimicrobial Activity of Green Synthesized Silver Nanoparticles Against Selected Gram-negative Foodborne Pathogens. *Front Microbiol.* 2018 Jul 16;9:1555. doi: 10.3389/fmicb.2018.01555. PMID: 30061871; PMCID: PMC6054941
46. Luo, Ke, et al. "Microbial biosynthesis of silver nanoparticles in different culture media." *Journal of agricultural and food chemistry* 66.4 (2018): 957-962.
47. Mateo, E. M., & Jiménez, M. (2022). Silver Nanoparticle-Based Therapy: Can It Be Useful to Combat Multi-Drug Resistant Bacteria?. *Antibiotics*, 11(9), 1205.
48. Mbarek WB, Escoda L, Saurina J, Pineda E, Alminderej FM, Khitouni M, Suñol JJ. Nanomaterials as a Sustainable Choice for Treating Wastewater: A Review. *Materials (Basel)*. 2022 Dec 1;15(23):8576. doi: 10.3390/ma15238576. PMID: 36500069; PMCID: PMC9737022.
49. Mendes, C.R., Dilarri, G., Forsan, C.F. et al. Antibacterial action and target mechanisms of zinc oxide nanoparticles against bacterial pathogens. *Sci Rep* 12, 2658 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06657-y>
50. More, Pragati Rajendra, Santosh Pandit, Anna De Filippis, Gianluigi Franci, Ivan Mijakovic, and Massimiliano Galdiero. 2023. "Silver Nanoparticles: Bactericidal

- and Mechanistic Approach against Drug Resistant Pathogens" *Microorganisms* 11, no. 2: 369. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020369>
51. Mukherjee S. et al. Potential theranostics application of bio-synthesized silver nanoparticles (4-in-1 system) // *Theranostics*. – 2014. – T. 4. – №. 3. – C. 316.
52. Mukundan, D.; Mohankumar, R.; Vasanthakumari, R. Comparative Study of Synthesized Silver and Gold Nanoparticles Using Leaves Extract of *Bauhinia Tomentosa* Linn and Their Anticancer Efficacy. *Bull. Mater. Sci.* 2017, 40, 335–344. <https://doi.org/10.1007/s12034-017-1376-2>
53. Mujaddidi, Neelam, et al. "Pharmacological properties of biogenically synthesized silver nanoparticles using endophyte *Bacillus cereus* extract of *Berberis lyceum* against oxidative stress and pathogenic multidrug-resistant bacteria." *Saudi journal of biological sciences* 28.11 (2021): 6432-6440.
54. Mustapha T, Misni N, Ithnin NR, Daskum AM, Unyah NZ. A Review on Plants and Microorganisms Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles, Role of Plants Metabolites and Applications. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Jan 7;19(2):674. doi: 10.3390/ijerph19020674. PMID: 35055505; PMCID: PMC8775445.
55. Mussin J, Robles-Botero V, Casañas-Pimentel R, Rojas F, Angiolella L, San Martín-Martínez E, Giusiano G. Antimicrobial and cytotoxic activity of green synthesis silver nanoparticles targeting skin and soft tissue infectious agents. *Sci Rep*. 2021 Jul 15;11(1):14566. doi: 10.1038/s41598-021-94012-y. PMID: 34267298; PMCID: PMC8282796.
56. Nadaf, Sameer J., et al. "Green synthesis of gold and silver nanoparticles: Updates on research, patents, and future prospects." *OpenNano* (2022): 100076.
57. Naganthran A, Verasoundarapandian G, Khalid FE, Masarudin MJ, Zulkharnain A, Nawawi NM, Karim M, Che Abdullah CA, Ahmad SA. Synthesis, Characterization and Biomedical Application of Silver Nanoparticles. *Materials (Basel)*. 2022 Jan 6;15(2):427. doi: 10.3390/ma15020427. PMID: 35057145; PMCID: PMC8779869.

58. Natan M., Banin E. From Nano to Micro: Using nanotechnology to combat microorganisms and their multidrug resistance. *FEMS Microbiol. Rev.* 2017;41:302–322. doi: 10.1093/femsre/fux003.
59. Netala VR, Bukke S, Domdi L, Soneya S, G Reddy S, Bethu MS, Kotakdi VS, Saritha KV, Tartte V. Biogenesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Indigofera hirsuta* L. and their potential biomedical applications (3-in-1 system). *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2018;46(sup1):1138-1148. doi: 10.1080/21691401.2018.1446967. Epub 2018 Mar 7. PMID: 29513113.
60. Otari, S. V., Patil, R. M., Ghosh, S. J., Thorat, N. D., & Pawar, S. H. (2015). Intracellular synthesis of silver nanoparticle by actinobacteria and its antimicrobial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136, 1175-1180.
61. Pantarotto D. et al. Chemistry & Biology/ Immunization with Peptide-Functionalized Carbon Nanotubes Enhances Virus-Specific Neutralizing Antibody Responses. 2013. Vol. 10, no. 10. P. 961—966. 77
62. Patra, JK, Das, G., Fraceto, LF та ін. Наносистеми доставки ліків: останні розробки та майбутні перспективи. *J Nanobiotechnol* 16 , 71 (2018). <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0392-8>
63. Pernas-Pleite C, Conejo-Martínez AM, Marín I, Abad JP. Green Extracellular Synthesis of Silver Nanoparticles by *Pseudomonas allopuntida*, Their Growth and Biofilm-Formation Inhibitory Activities and Synergic Behavior with Three Classical Antibiotics. *Molecules.* 2022; 27(21):7589. <https://doi.org/10.3390/molecules27217589>
64. Prasad, S. R., et al. "A review on bio-inspired synthesis of silver nanoparticles: their antimicrobial efficacy and toxicity." *Engineered Science* 16 (2021): 90-128.
65. Qamer S, Romli MH, Che-Hamzah F, Misni N, Joseph NMS, Al-Haj NA, Amin-Nordin S. Systematic Review on Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Antibacterial Activities: Application and Theoretical. Perspectives. *Molecules.*

- 2021 Aug 20;26(16):5057. doi: 10.3390/molecules26165057. PMID: 34443644; PMCID: PMC8398138.
66. Quinteros MA, Aiassa Martínez IM, Dalmaso PR, Páez PL. Silver Nanoparticles: Biosynthesis Using an ATCC Reference Strain of *Pseudomonas aeruginosa* and Activity as Broad Spectrum Clinical Antibacterial Agents. *Int J Biomater*. 2016;2016:5971047. doi: 10.1155/2016/5971047. Epub 2016 May 31. PMID: 27340405; PMCID: PMC4906205.
67. Ramya Vishwanath, and Beena Negi. "Conventional and Green Methods of Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Antimicrobial Properties." *Current research in green and sustainable chemistry*, v. 4 ,. pp. 100205. doi: 10.1016/j.crgsc.2021.100205
68. Rattan, Rohit, et al. "A mini-review on lichen-based nanoparticles and their applications as antimicrobial agents." *Frontiers in Microbiology* 12 (2021): 633090.
69. Remya, R. R., et al. "Biofabrication of silver nanoparticles and current research of its environmental applications." *Journal of Nanomaterials* 2022 (2022).
70. R.L. Edelstein et al. / *Biosensors & Bioelectronics* 14 (2020) 805–813.
71. Saravanan M, Barik SK, MubarakAli D, Prakash P, Pugazhendhi A. Synthesis of silver nanoparticles from *Bacillus brevis* (NCIM 2533) and their antibacterial activity against pathogenic bacteria. *Microb Pathog*. 2018 Mar;116:221-226. doi: 10.1016/j.micpath.2018.01.038. Epub 2018 Jan 31. PMID: 29407231. <https://scihub.se/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0882401017315437?via%3Dihub>
72. Saleh, Mona Nima, and Syoof Khoman Alwan. "Bio-synthesis of silver nanoparticles from bacteria *Klebsiella pneumoniae*: Their characterization and antibacterial studies." *Journal of Physics: Conference Series*. Vol. 1664. No. 1. IOP Publishing, 2020.

73. Salnus, Subakir, et al. "A Review on Green Synthesis, Antimicrobial Applications and Toxicity of Silver Nanoparticles Mediated by Plant Extract." *Indonesian Journal of Chemistry* (2022).
74. Sahoo J, Sarkhel S, Mukherjee N, Jaiswal A. Nanomaterial-Based Antimicrobial Coating for Biomedical Implants: New Age Solution for Biofilm-Associated Infections. *ACS Omega*. 2022 Dec 10;7(50):45962-45980. doi: 10.1021/acsomega.2c06211. PMID: 36570317; PMCID: PMC9773971.
75. Shaikh, S.; Nazam, N.; Rizvi, S.M.D.; Ahmad, K.; Baig, M.H.; Lee, E.J.; Choi, I. Mechanistic Insights into the Antimicrobial Actions of Metallic Nanoparticles and Their Implications for Multidrug Resistance. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20, 2468. <https://doi.org/10.3390/ijms20102468>,
76. Siddiqi KS, Husen A, Rao RAK. A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. *J Nanobiotechnology*. 2018 Feb 16;16(1):14. doi: 10.1186/s12951-018-0334-5. PMID: 29452593; PMCID: PMC5815253.
77. Singh, Priyanka, et al. "Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms." *Trends in biotechnology* 34.7 (2016): 588-599.
78. Singh, Priyanka, et al. "Extracellular synthesis of silver and gold nanoparticles by *Sporosarcina koreensis* DC4 and their biological applications." *Enzyme and Microbial Technology* 86 (2016): 75-83.
79. Singh H, Du J, Singh P, Yi TH. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by *Pseudomonas* sp. THG-LS1.4 and their antimicrobial application. *J Pharm Anal*. 2018 Aug;8(4):258-264. doi: 10.1016/j.jpha.2018.04.004. Epub 2018 Apr 20. PMID: 30140490; PMCID: PMC6104148.
80. Singh H, Du J, Yi TH. *Kinneretia* THG-SQI4 mediated biosynthesis of silver nanoparticles and its antimicrobial efficacy. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2017 May;45(3):602-608. doi: 10.3109/21691401.2016.1163718. Epub 2016 Mar 26. PMID: 28211298.
81. Singh, Om V., ed. *Bio-nanoparticles: biosynthesis and sustainable biotechnological implications*. John Wiley & Sons, 2015.

82. Skanda S, Bharadwaj PSJ, Datta Darshan VM, Sivaramakrishnan V, Vijayakumar BS. Proficient mycogenic synthesis of silver nanoparticles by soil derived fungus *Aspergillus melleus* SSS-10 with cytotoxic and antibacterial potency. *J Microbiol Methods*. 2022 Aug;199:106517. doi: 10.1016/j.mimet.2022.106517. Epub 2022 Jun 10. PMID: 35697186.
83. Skóra B, Krajewska U, Nowak A, Dziedzic A, Barylyak A, Kus-Liśkiewicz M. Noncytotoxic silver nanoparticles as a new antimicrobial strategy. *Sci Rep*. 2021 Jun 29;11(1):13451. doi: 10.1038/s41598-021-92812-w. PMID: 34188097; PMCID: PMC8242066.
84. Thomas R., Janardhanan A., Varghese R.T., Soniya E.V., Mathew J., Radhakrishnan E.K. Antibacterial properties of silver nanoparticles synthesized by marine *Ochrobactrum* sp. *Braz. J. Microbiol*. 2014;45:1221–1227. doi: 10.1590/S1517-83822014000400012.
85. Tran Q.H., Nguyen V.Q., Le A. Silver nanoparticles: Synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol*. 2013;4:033001. doi: 10.1088/2043-6262/4/3/033001.
86. Tsekhmistrenko, S. I., Bityutskyy, V. S., Tsekhmistrenko, O. S., Horalskyi, L. P., Tymoshok, N. O., & Spivak, M. Y. (2020). Bacterial synthesis of nanoparticles: A green approach. *Biosystems Diversity*, 28(1), 9-17. DOI: <https://doi.org/10.15421/012002>
87. Wahab S, Khan T, Adil M, Khan A. Mechanistic aspects of plant-based silver nanoparticles against multi-drug resistant bacteria. *Heliyon*. 2021 Jul 1;7(7):e07448. doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e07448. PMID: 34286126; PMCID: PMC8273360.,
88. Waheed, S., Li, Z., Zhang, F. et al. Engineering nano-drug biointerface to overcome biological barriers toward precision drug delivery. *J Nanobiotechnol* 20, 395 (2022). <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01605-4>
89. Wang, X.; Lee, S.-Y.; Akter, S.; Huq, M.A. Probiotic-Mediated Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Applications against Pathogenic

- Strains of *Escherichia coli* O157:H7. *Polymers* 2022, 14, 1834.
<https://doi.org/10.3390/polym14091834>
90. Wojtysiak S., Kudelski A. Influence of oxygen on the process of formation of silver nanoparticles during citrate/borohydride synthesis of silver sols. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2012. Vol. 410. P. 45— 51.
91. Xu L, Wang YY, Huang J, Chen CY, Wang ZX, Xie H. Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics* 2020; 10(20):8996-9031. doi:10.7150/thno.45413. <https://www.thno.org/v10p8996.htm>
92. Yaqoob A.A., Umar K., Ibrahim M.N.M. Silver nanoparticles: Various methods of synthesis, size affecting factors and their potential applications—A review. *Appl. Nanosci.* 2020;10:1369–1378. doi: 10.1007/s13204-020-01318-w.
93. Yaqoob AA, Ahmad H, Parveen T, Ahmad A, Oves M, Ismail IMI, Qari HA, Umar K, Mohamad Ibrahim MN. Recent Advances in Metal Decorated Nanomaterials and Their Various Biological Applications: A Review. *Front Chem.* 2020 May 19;8:341. doi: 10.3389/fchem.2020.00341. PMID: 32509720; PMCID: PMC7248377
94. Yang Y, Waterhouse GIN, Chen Y, Sun-Waterhouse D, Li D. Microbial-enabled green biosynthesis of nanomaterials: Current status and future prospects. *Biotechnol Adv.* 2022 Mar-Apr;55:107914. doi: 10.1016/j.biotechadv.2022.107914. Epub 2022 Jan 24. PMID: 35085761.
95. Yin, I.X.; Zhang, J.; Zhao, I.S.; Mei, M.L.; Li, Q.; Chu, C.H. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. *IJN* 2020, 15, 2555–2562. DOI <https://doi.org/10.2147/IJN.S246764>,
96. Yusuf A, Almotairy ARZ, Henidi H, Alshehri OY, Aldughaim MS. Nanoparticles as Drug Delivery Systems: A Review of the Implication of Nanoparticles' Physicochemical Properties on Responses in Biological Systems. *Polymers (Basel)*. 2023 Mar 23;15(7):1596. doi: 10.3390/polym15071596. PMID: 37050210; PMCID: PMC10096782.

97. Zaidi S, Misba L, Khan AU. Nano-therapeutics: A revolution in infection control in post antibiotic era. *Nanomedicine*. 2017 Oct;13(7):2281-2301. doi: 10.1016/j.nano.2017.06.015. Epub 2017 Jun 30. PMID: 28673854.
98. Zou SB, Yoon WY, Han SK, Jeong SH, Cui ZJ, Kim WK. Cytotoxicity of silver dressings on diabetic fibroblasts. *Int Wound J*. 2013 Jun;10(3):306-12. doi: 10.1111/j.1742-481X.2012.00977.x. Epub 2012 Apr 26. PMID: 22533495; PMCID: PMC7950609.
99. Zewde B, Ambaye A, Stubbs Iii J, Raghavan D. A review of stabilized silver nanoparticles—synthesis, biological properties, characterization, and potential areas of applications. *Nanomedicine*. 2016;4(1043):1–4. Zewde B, Ambaye A, Stubbs Iii J, Raghavan D. A review of stabilized silver nanoparticles—synthesis, biological properties, characterization, and potential areas of applications. *Nanomedicine*. 2016;4(1043):1–4.
100. Vora L.K., Gholap A.D., Jetha K., Thakur R.R.S., Solanki H.K., Chavda V.P. Artificial Intelligence in Pharmaceutical Technology and Drug Delivery Design. *Pharmaceutics*. 2023; 15: 1916.
101. Scannell J.W., Blanckley A., Boldon H., Warrington B. Diagnosing the Decline in Pharmaceutical R&D Efficiency. *Nat. Rev. Drug Discov*. 2012; 11: 191–200.
102. Hassanzadeh P., Atyabi F., Dinarvand R. The Significance of Artificial Intelligence in Drug Delivery System Design. *Adv. Drug Deliv. Rev*. 2019; 151–152: 169–190.
103. Тихонов О. І. Аптечна технологія ліків : підруч. для студентів вищ. навч. закл. / О. І. Тихонов, Т. Г. Ярних. - 5-е вид. - Вінниця: Нова кн., 2019. - 535 с.
104. Аптечна технологія ліків: метод. рек. для самостійної роботи здобувачів вищої освіти спеціальності «Фармація, промислова фармація» денної та заочної форми навчання / Н. П. Половко [та ін.]. – Х. : Вид-во НФаУ, 2018. – 72 с.

105. Виробнича практика з аптечної технології ліків: метод. рек. з підготовки до підсумкового модульного контролю здобувачів вищої освіти спеціальності «Фармація» денної та заочної форми навчання / Н. П. Половко, Л. І. Вишневська, Т. М. Зубченко, Т. М. Ковалева. – Х.:Вид-во НФаУ, 2018.–27 с.
106. Використання мікроорганізмів для біогенного синтезу наночасток / Є. В. Харченко, О. І. Скроцька // Наук. пр. Нац. ун-ту харч. технологій. - 2020. - 26, № 2.
107. Пластикова або скляна медична тара: порівняння характеристик [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ametistglass.com/blog/plastikovaya-ili-steklyannaya/>
108. КЛАСИФІКАЦІЯ ВИРОБНИЧИХ ПРИМІЩЕНЬ. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/3558/klasifikaciya-virobnichixprimishhe>
109. Технологія ліків промислового виробництва: Підруч. Для студ. вищ. фармац. навч. закл. і фармац. ф-тів вищ. мед.навч. закл. III—IVрівнів акредитації /В. І.Чуєшов, Л. М.Хохлова, О. О. Ляпунова та ін.; За ред. В. І.Чуєшова —Х.:Видво НФаУ; Золоті сторінки, 2003. — 720с.
110. Ampoule Labeling Machine. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.vkprak.com/ampoule-labeling-machine.html>
111. Automatic Ampoule/Vial Cartoning Machine. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.grand-packing.com/automatic-horizontal-cartoningmachine-for-ampoule.html>