

**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) (прізвище та ініціали)

« » лютий 2024 р.

«До захисту допущено»
Завідувач кафедри
Віктор СТАБНІКОВ
(підпис) (прізвище та ініціали)

« » лютий 2024 р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА**

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерії»
(код та назва спеціальності)

освітньо-професійної програми «Промислова біотехнологія»

на тему: «Біомедичний потенціал мікробних поверхнево-активних речовин»

Виконав: здобувач 2 курсу, групи 01

ПАВЛІЄНКО Дарина Петрівна
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник ПИРОГ Тетяна Павлівна
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) (підпис)

Консультанти _____
(прізвище та ініціали) (підпис)

_____ (прізвище та ініціали) (підпис)

_____ (прізвище та ініціали) (підпис)

Рецензент Олена СЕМЕНОВА
(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) незарядженої 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 «Промислова біотехнологія»
(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і
мікробіології

Віктор СТАБНІКОВ

“ 30 ” жовтня 2023 року

З А В Д А Н Н Я
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА
ПАВЛІЄНКО Дарини Петрівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Біомедичний потенціал мікробних поверхнево-активних речовин
керівник роботи ПИРОГ Тетяна, д. б. н., проф.,
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)
затверджені наказом закладу вищої освіти від 06 листопада 2023 року № 914-кв
2. Строк подання здобувачем роботи 05.02.2024
3. Вихідні дані до роботи штам *Starmerella bombicola* ATCC 22214 для створення косметичного крему з софороліпідами проти акне.
Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) :
Реферат, Вступ, РОЗДІЛ 1. Біологічні властивості мікробних поверхнево-активних гліко- та ліпопептидів.РОЗДІЛ 2. Особливості біосинтезу мікробних поверхнево-активних речовин біомедичного призначення.РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування виробництва продукту мікробного синтезу.РОЗДІЛ 4. Обґрунтування етапів виділення та очистки цільового продукту мікробного синтезу.РОЗДІЛ 5. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях.РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання.РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми.РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва продукту мікробного синтезу.РОЗДІЛ 9. Проект технічних умов (ТУ) на випуск товарної форми цільового продукту.
5. Перелік графічного матеріалу
Технологічні схеми :виділення софороліпідів аркуш формату А₂; Ділянка виготовлення крему з софороліпідами формату А₃ Апаратурні схеми : Виділення софороліпідів формату А₂; Виготовлення крему з софороліпідами формату А₃

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
	РОЗДІЛ 1. Біологічні властивості мікробних поверхнево-активних гліко- та ліпопептидів.	01.11.23р. – 13.11.23р	
	РОЗДІЛ 2. Особливості біосинтезу мікробних поверхнево-активних речовин біомедичного призначення.	13.11.23р- 17.11.23р.	
	РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування виробництва продукту мікробного синтезу.	17.11.23р.- 23.11.23р.	
	РОЗДІЛ 4. Обґрунтування етапів виділення та очистки цільового продукту мікробного синтезу.	23.11.23р.- 26.11.23р.	
	РОЗДІЛ 5. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях.	26.11.23р.- 01.12.23р.	
	РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання.	01.12.23р.- 05.12.23р.	
	РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми.	05.12.23р.- 12.12.23р.	
	РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва продукту мікробного синтезу.	12.12.23р.- 17.12.23р.	
	РОЗДІЛ 9. Проект технічних умов (ТУ) на випуск товарної форми цільового продукту.	17.12.23р.- 30.12.23р.	
	Оформлення апаратурних та технологічних схем.	30.12.23р.- 09.01.24р.	
	Оформлення вступу та реферату.	09.01.24р.- 17.01.24р.	

Здобувач _____
(підпис)

Дарина ПАВЛІЄНКО
(ім'я та прізвище)

Керівник роботи _____
(підпис)

Тетяна ПИРОГ
(ім'я та прізвище)

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	5
ВСТУП	6

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

РОЗДІЛ 1. БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ МІКРОБНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ ГЛІКО- ТА ЛІПОПЕПТИДІВ	9
--	---

1.1. Антимікробна активність.....	9
-----------------------------------	---

1.2. Здатність до руйнування біоплівки.....	27
---	----

РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ БІОСИНТЕЗУ МІКРОБНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН БІОМЕДИЧНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ	32
--	----

2.1. Особливості біосинтезу рамноліпідів.....	32
---	----

2.2. Особливості біосинтезу софороліпідів.....	37
--	----

2.3. Особливості біосинтезу ліпопептидів.....	42
---	----

ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування виробництва продукту мікробного синтезу	49
---	----

3.1. Потреба у цільовому продукті (нинішня та враховуючи перспективи).....	49
--	----

3.2. Обґрунтування вибору біологічного агента для інженерної частини роботи.....	52
--	----

3.3. Розрахунок річної потужності виробництва.....	58
--	----

3.4. Обґрунтування вибору товарної форми випуску цільового продукту мікробного синтезу.....	60
---	----

3.4.1. Обґрунтування форми випуску препарату	62
--	----

3.4.1.1. Складники крему, який використовується для лікування акне.....	63
---	----

3.4.2. Обґрунтування вибору первинної та вторинної упаковки ...	65
---	----

РОЗДІЛ 4. Обґрунтування етапів виділення та очистки цільового продукту мікробного синтезу	68
--	----

4.1. Видалення біомаси.....	68
4.2. Виділення софороліпідів.....	69
4.3. Очищення софороліпідів.....	72
4.4. Сушіння софороліпідів.....	73
РОЗДІЛ 5. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях (для етапів виділення та очищення цільового продукту).....	74
РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання	78
РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми (післяферментаційне виділення і очищення цільового продукту, отримання готового продукту).....	85
РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва продукту мікробного синтезу (підбір сучасних методів контролю виробництва).....	92
8.1. Контроль виробництва субстанції.....	92
8.2. Контроль виробництва готового продукту. Визначення стабільності емульсійного крему.....	95
РОЗДІЛ 9. Проект технічних умов (ту) на випуск товарної форми цільового продукту.....	98
9.1. Сфера застосування.....	98
9.2. Технічні вимоги.....	98
9.3. Вимоги безпеки.....	101
9.4. Вимоги охорони довкілля.....	102
9.5. Правила приймання.....	102
9.6. Методи контролювання (випробування, аналізу, вимірювання)....	103
9.7. Транспортування та зберігання.....	105
9.8. Гарантії виробника.....	105
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	110

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена розробленню технологічної та апаратурної схеми виділення та очищення софороліпідів після мікробіологічного синтезу та власне виробництва косметичного крему, який містить софороліпіди.

В даній роботі було розглянуто основні властивості цільової речовини та галузі використання, серед розглянутих сфер застосування було обрано косметичну. Розраховано річну потребу в софороліпідах для лікування акне, яка становить 186,15 кг, та визначено необхідну кількість культуральної рідини за умови що виробничий синтез відбувається культивуванням *Starmerella bombicola* ATCC 22214, який синтезує 315,6 г/л софороліпідів за 288 год культивування. Визначивши необхідну кількість культуральної рідини за цикл, проведено підбір технологічного обладнання з урахуванням матеріальних потоків. Процес виділення та очищення цільового продукту передбачає проведення наступних етапів: зберігання культуральної рідини, видалення біомаси, виділення софороліпідів, очищення софороліпідів, сушіння і пакування та маркування. Описана технологічна схема виготовлення косметичного крему з софороліпідами, яка включає допоміжні роботи (підготовка води очищеної та підготовка компонентів крему) та технологічного процесу (емульгування суміші компонентів крему, охолодження отриманої емульсії, пластична обробка грубої емульсії, фасування, маркування та упакування готового крему).

Кваліфікаційна робота викладена на 123 сторінках друкованого тексту, містить 18 таблиць та 5 рисунків. Складається з 9 розділів, списку використаної літератури (114 джерел) та графічної частини.

Ключові слова: *Starmerella bombicola* ATCC 22214, софороліпіди, виділення та очищення, косметичний крем, лікування акне.

ABSTRACT

The qualification work is devoted to the development of a technological and apparatus scheme for the isolation and purification of sophorolipids after microbiological synthesis and the actual production of a cosmetic cream containing sophorolipids.

In this work, the main properties of the target substance and the field of use were considered, among the considered areas of application, the cosmetic one was chosen. The annual need for sophorolipids for the treatment of acne was calculated, which is 186.15 kg, and the necessary amount of culture liquid was determined, provided that the production synthesis is carried out by cultivating *Starmerella bombicola* ATCC 22214, which synthesizes 315.6 g/l of sophorolipids in 288 h of cultivation. Having determined the required amount of culture liquid per cycle, selection of technological equipment was carried out taking into account material flows. The process of isolation and purification of the target product involves the following stages: storage of culture liquid, removal of biomass, isolation of sophorolipids, purification of sophorolipids, drying and packaging and labeling. The technological scheme for the production of cosmetic cream with sophorolipids is described, which includes auxiliary work (preparation of purified water and preparation of cream components) and technological process (emulsification of the mixture of cream components, cooling of the resulting emulsion, plastic processing of the rough emulsion, packaging, labeling and packaging of the finished cream).

The qualification work is laid out on 123 pages of printed text, contains 18 tables and 5 figures. It consists of 9 chapters, a list of used literature (114 sources) and a graphic part.

Key words: *Starmerella bombicola* ATCC 22214, sophorolipids, isolation and purification, cosmetic cream, acne treatment.

ВСТУП

Біоповерхнево-активні речовини (БС) — це мікробні сполуки, які стали потенційною альтернативою хімічним поверхнево-активним речовинам завдяки своїм багатофункціональним властивостям, стійкості та здатності до біологічного розкладання. Крім того, численні біоповерхнево-активні речовини демонструють додаткові біологічні характеристики, такі як антибактеріальні, протигрибкові та противірусні ефекти, а також антиоксидантну, протипухлинну та імуномодулюючу дію. Протягом останніх двох десятиліть численні дослідження вивчали їх потенційне застосування, включаючи фармацевтику, косметику, антимікробні та антибіоплівкові засоби, загоєння ран, лікування раку, модулятори імунної системи та носії ліків/генів. Ці програми особливо важливі для вирішення таких проблем, як антимікробна резистентність і утворення біоплівки в клінічних, гігієнічних і терапевтичних умовах. Вони також можуть служити агентами для покриття поверхонь, забезпечуючи стратегії антиадгезивності, придушення або викорінення [1].

Відкриття нових біоактивних молекул має важливе значення для боротьби з численними захворюваннями та інфекціями. Серед них в останні роки дослідження були зосереджені, зокрема, на ідентифікації молекул природного походження [1]. Біосурфактанти (БС), або тензіоактивні біомолекули, є продуктом біосинтезу великої кількості різноманітних мікроорганізмів, від бактерій (*Acinetobacter*, *Bacillus* і *Pseudomonas*) до нитчастих грибів (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Ustilago*) і дріжджів (*Kluyveromyces*, *Pseudozyma*, *Rhodotorula*, *Torulopsis*, *Saccharomyces*, *Candida*), серед інших, на додаток до деяких тварин і рослин [2]. Вони можуть виділятися позаклітинно або розташовуватися на поверхні

					НУХТ БТЕК КР 02.01.03 ПЗ					
Змн	Арк.	№	Підпис	Дат	ВСТУП					
Розроб.	Павлієнко							Літ.	Арк.	Акрушіє
Перевір.	Пирог Т.П.								6	3
								9		
Н. Контр.								Кафедра БТМ		
Затверд.	Стабніков									

клітин. Тип і вихід синтезованого біосурфактанту зазвичай є видоспецифічними і залежать від субстрату, який використовується для росту мікроорганізмів, і умов їхнього виробництва. Вони виробляються в основному як вторинні метаболіти і можуть відігравати важливу роль у локалізації, виживанні та зростанні мікроорганізмів-продуцентів, таких як рухливість, метаболізм, прикріплення/від'єднання до поверхонь, захист від мікробних антагоністів, утворення біоплівки та відставання та стійкість до токсичних сполук [3].

Ці молекули поверхнево-активної суміші структурно складаються з гідروفобного хвоста (вуглеводневі ланцюги ненасичених або насичених жирних кислот) і гідрофільної головки (пептидні катіони, аніони або моно-, ди- чи полісахариди) і можуть утворювати міцели [3].

Завдяки цій амфіпатичній природі та унікальному структурному розташуванню біоповерхнево-активні речовини демонструють різноманітні фізико-хімічні властивості, такі як чудова поверхнева активність, ефективна критична концентрація міцели та здатність утворювати мікроемульсії, зволожуюча, піноутворювальна та миюча активність [4].

З цих причин протягом останніх двох десятиліть мікробні поверхнево-активні речовини були широко вивчені, промислово вироблені та, завдяки їхній різноманітній комерційній привабливості, застосовувалися в багатьох галузях у всьому світі, починаючи від фарби до нафти, миючих засобів для очищення води та продуктів харчування до фармацевтики, косметика та біомедицина [5].

Не менш важливо те, що біоповерхнево-активні речовини продемонстрували сумісність з різними лікарськими формами, включаючи наночастинки, ліпосоми, мікро- та наноемульсії та гідрогелі, покращуючи розчинність, стабільність і біодоступність ліків, а також забезпечуючи цілеспрямоване та контрольоване вивільнення ліків. Ці якості роблять біосурфактанти перспективними кандидатами для розробки антимікробних, антибіоплівкових, протипухлинних, ранозагоювальних, імуномодулюючих

засобів, засобів доставки ліків або генів, а також ад'ювантів до інших антибіотиків [5].

РОЗДІЛ 1. БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ МІКРОБНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ ГЛІКО- ТА ЛІПОПЕПТИДІВ

1.1. Антимікробна активність

На сьогодні поверхнево-активним речовинам мікробного походження приділяється все більше уваги через велику кількість властивостей. Дані речовини є безпечними для навколишнього середовища, не поступаються по характеристикам синтетичним поверхнево-активним речовинам, а найголовніше вони демонструють антимікробні властивості проти патогенних мікроорганізмів. Тому за останні десятиліття збільшилась кількість дослідів присвячених як оптимізації процесу отримання поверхнево-активних речовин так і дослідженню їх антимікробних властивостей. [6-8]

Найбільш дослідженими серед ПАР, отримуваних мікробним шляхом, є гліколіпіди (рамноліпіди та софороліпіди) [9], а також ліпопептиди [10] тому розглянемо дослідження останніх років, присвячені антимікробним властивостям даних ПАР.

Рамноліпіди

Серед мікробних поверхнево-активних речовин найбільш вивченими на сьогодні є рамноліпіди. Вони є класом гліколіпідів, їхня молекула утворюється глікозидним зв'язком між однією або двома молекулами L-рамнози та гідрофобною групою, що складається з однієї або двох β -гідроксижирних кислот [6]. Найкраще вивченим продуцентом рамноліпідів є грамнегативна бактерія *Pseudomonas aeruginosa* [12-18]. Також учені продовжують шукати інших продуцентів, які спроможні синтезувати дані речовини. Так, у статтях [19, 20] розглядаються члени родин *Planococcus* та *Lactobacillus*, здатні синтезувати рамноліпіди.

					НУХТ БТЕК КР 02.01.03 ПЗ			
Змн	Арк.	№	Підпис	Дат	РОЗДІЛ 1. БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ МІКРОБНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ ГЛІКО- ТА ЛІПОПЕПТИДІВ	Літ.	Арк.	Акрушів
Розроб.	Павлієнко						9	22
Перевір.	Пирог Т.П.							12
Н. Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.	Стабніков							

В 2019 році Sen зі співавторами [12] розглянули антифунгальну активність рамноліпідів, отриманих за допомогою *Pseudomonas aeruginosa* SS14 проти *Trichophyton rubrum*. Так, під час дослідів було встановлено, що при концентрації рамноліпідів 500 мкг/мл інгібування росту міцелію *Trichophyton rubrum* MTCC 8477 відбувається на 65 %, у той час як інгібування проростання спор на 100 %. Пізніше того ж року дані вчені також встановили антимікробну активність отриманих рамноліпідів при вирощуванні *Pseudomonas aeruginosa* SS14 на поживному середовищі з відходів зерна спиртового виробництва. В результаті було встановлено що показник МІК проти *Candida tropicalis* MTCC 1000 становив 250 мкг/мл [13].

В 2020 році ця ж група дослідників провели дослідження спрямоване на встановлення впливу різних вуглецевих субстратів на протигрибкову активність по відношенню до *Trichophyton rubrum* та *Trichophyton mentagrophytes*. Так, рамноліпід, отриманий при рості на глюкозі та манітолі по відношенню до *T. rubrum* MTCC 847 мали найкращу протигрибкову активність (МІК – 0,5 мг/мл), а при рості на гліцерині та мелясі показник МІК становив 1,0 мг/мл. Проти *T. mentagrophytes* NCCPF 800049 найкращі показники проявляють рамноліпід, отриманий при рості на гліцерині, а потім – на глюкозі та манітолі, найгірші – на мелясі, показники МІК становили 0,125, 0,25, 0,25 та 0,5 мг/мл, відповідно. [14]

Також в 2020 році [15] вчені порівняли вплив складу поживного середовища на синтез рамноліпідів та їх антимікробну активність. Під час дослідів було порівняно вплив гідрофільного (глюкоза) та гідрофобного (соєва олія) джерела вуглецю на синтез та активність рамноліпідів при вирощуванні *Pseudomonas aeruginosa* SG. У результаті було отримано результати, які свідчать, що використання в якості джерела вуглецю глюкози краще впливає на антимікробні властивості ПАР. Так, зона затримки росту рамноліпідів, отриманих на глюкозі при концентрації 200 мг/л для *Escherichia coli* DH5 α та *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 становила 21 та 32

мм, відповідно, а для рамноліпідів, отриманих на соєвій олії – 16 та 24 мм, відповідно.

Sanjivkumar з співавторами [16] в своїй роботі проводили визначення антибактеріальних властивостей поверхнево-активних речовин, синтезованих *Pseudomonas aeruginosa* DKB1, проти клінічних патогенів людини *Escherichia coli* MTCC 96, *Vibrio cholerae* ATCC 14035, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Streptococcus mutant* NCIM 2063, *Klebsiella pneumoniae* MTCC 432, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterobacter aerogenes* MTCC 111, *Streptococcus pneumoniae* MTCC 655, *Salmonella typhi* MTCC 733 та *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Так, у результаті вирощування *Pseudomonas aeruginosa* DKB1 на поживному середовищі з внесенням оливкової олії (2 %), було отримано рамноліпідів, які характеризуються такими зонами інгібування росту (при концентрації 30 мкг/мл): для *S. aureus* – 20 мм, *E. faecalis* – 22 мм, *S. pneumoniae* – 17 мм, *V. cholerae* – 24, мм *B. subtilis* – 26 мм, *S. mutant* – 16 мм, *K. pneumoniae* – 17 мм, *E. coli* – 22 мм, *E. aerogenes* – 23 мм, *S. typhi* – 17 мм. Крім цього, було визначено показник мінімальної інгібуючої концентрації, який становить для *B. subtilis* – 8 мкг/мл, для *V. cholerae* – 15 мкг/мл, для *E. aerogenes* – 15 мкг/мл, для *E. coli* – 20 мкг/мл і для *E. faecalis* – 15 мкг/мл.

Sabarinathan з співавторами в 2020 році [17] провели дослідження, направлене на визначення активності рамноліпідів, отриманих при вирощуванні *Pseudomonas plecoglossicida* BP03 на стічних водах рисового заводу. Отримані поверхнево-активні речовини проявили непогану антимікробну властивість проти *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* та *Aeromonas hydrophila*. Так, при концентрації 100 мкг/мл зона затримки росту становила: для *B. subtilis* – 4,7 см, для *S. aureus* – 4,4 см, для *E. coli* – 4 см, для *A. hydrophila* – 3,9 см.

Ceresa з співавторами в 2019 році [18] дослідили антимікробні властивості рамноліпідів отриманого за допомогою *Pseudomonas aeruginosa* 89. В підсумку вони визначили мінімальну інгібуючу концентрацію по

відношенню до *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 та *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984, які становили 0,06 і 0,12 мг/мл, відповідно.

Вчені не зупинились на дослідженні рамноліпідів, отриманих представниками родини *Pseudomonas* і розглядають представників інших родин мікроорганізмів, які здатні синтезувати дані речовини.

Так, *Mouafo* зі співавторами [19] досліджували властивості поверхнево-активних речовин, отриманих з *Lactobacillus casei subsp. casei* TM1B: під час культивування цього біологічного агента було отримано рамноліпиди, які проявляли хороші антимікробні властивості проти грам-позитивного *Bacillus subtilis* BC1 – показник МІК становив 3,22 мг/мл.

В 2020 році [20] було досліджено рамноліпиди, отримані культивуванням бактерій роду *Planococcus*. Так, активність рамноліпідів, отриманих при вирощуванні *Planococcus rifietoensis* ПТР53 та *Planococcus halotolerans* ПТР55, перевіряли на *Vibrio cholerae* MTCC 3904, *Clostridium perfringens* MTCC 450, *Salmonella typhimurium* MTCC 98, *Streptococcus oralis* MTCC 2696, *Streptococcus mutans* MTCC 497 і *Yersinia enterocolitica* MTCC 859. Було визначено, що найсильніше дані речовини діють проти *S. perfringens* та *V. cholerae*: рамноліпід (ПТР53) при концентрації 40 мг/мл пригнічує ріст на 50 % та 72 %, відповідно, а рамноліпід (ПТР55) – 53 % та 55 %. Більше того, було встановлено, що при концентрації рамноліпідів (отриманих з обох штамів) 60 мг/мл зона інгібування росту становить більше 80 % для всіх тестових мікроорганізмів.

Софороліпиди

Ще одним видом поверхнево-активних речовин, який входить до класу гліколіпідів, є софороліпиди. Ці речовини привертають увагу через протимікробну, противірусну, протиракову та імуномодулюючу дію [21]. Софороліпиди зазвичай виробляються непатогенними дріжджами та грибами, що продемонстровано в статтях [22-27].

У 2019 році [22] було отримано софороліпиди з *Candida albicans* SC5314 та *Candida glabrata* CBS138. За допомогою цитометричних аналізів

було встановлено, що при концентрації 60 мг/л софороліпідів *C. albicans* SC5314 та *C. glabrata* CBS138 відсоток інгібування росту для *Escherichia coli* MTCC 723 є незначним – 3,6 % та 4,4 %, відповідно, в той час як для *Bacillus subtilis* MTCC 441 пригнічення росту становить 24,2 % та 65 %, відповідно.

В 2020 році *Sen* зі співавторами [23] дослідили антифунгальний вплив софороліпідів отриманих при вирощуванні *Rhodotorula babjevae* YS3 по відношенню до *Trichophyton mentagrophytes*. Так, було встановлено, що показник МІК для *Trichophyton mentagrophytes* NCCPF 800049 становить 1 мг/мл.

Leyton зі співавторами в 2021 році [24] досліджували можливість використання рідкої фракції, яка є побічним продуктом переробки морських водоростей, в якості дешевого поживного середовища, та вплив даного середовища на антибактеріальні властивості софороліпиду. При вирощуванні *Rhodotorula rubra* на рідкій фракції (40 % об/об) були отримані софороліпіди, а саме: моноацетильований (1АС) кислий софороліпід (AS) (AS C_{22:0}-1АС) та кислий софороліпід метилового ефіру (AS C_{22:1}). Отримані софороліпіди інгібують ріст *Staphylococcus aureus* ATCC25923 та *Escherichia coli* ATCC25922 на 21,1 ± 2,8 % та 24,4 ± 2,1 %, відповідно.

В 2021 році вчені провели дослідження [25] з визначення антимікробних властивостей софороліпідів, синтезованих дріжджами *Metschnikowia churdharensis* CIG-6A^T. У результаті отримано суміш кислих і лактонових форм софороліпідів, активність яких тестували на патогенному грибі *Fusarium solani*, грам-негативних (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) та грам-позитивних (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) бактеріях. Отримані показники МІК демонструють, що дані софороліпіди найефективніші проти *Bacillus subtilis* MTCC 9490 та *Staphylococcus aureus* MTCC 1430 з повним інгібуванням при 1 та 5 мкг/мл. Трохи гірші результати спостерігаються для *Klebsiella pneumoniae* MTCC 618 і *Pseudomonas aeruginosa* MTCC 1934 – 12 та 18 мкг/мл, відповідно. Для *Fusarium solani* MTCC 350 МІК становила 49 мкг/мл.

В 2021 році вчені [26] провели дослідження з визначення протимікробних властивостей софороліпідів, отриманих при вирощуванні *Starmerella bombicola* ATCC 22214 на поживному середовищі з міристиновою кислотою (1% об/об). Отримані софороліпіди проявляють кращі антибактеріальні властивості (в порівнянні з софороліпідами, отриманими на олеїновій кислоті) відносно грам-позитивних бактерій і трохи гірші – відносно грам-негативних. Так, показник МІК для *Staphylococcus aureus* ATCC 9144 становить 150 мкг/мл, інгібування бактерій при концентрації 150 мкг/мл через 30 хв становить приблизно 97 %, а при концентрації вище 350 мкг/мл повне пригнічення відбувається через 15 хв. Для *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 інгібування росту на 82 % відбувається при обробленні впродовж 1 год концентрацією 350 мкг/мл.

В роботі [27] проводилось порівняння активності суміші софороліпідів, отриманих культивуванням *Starmerella bombicola* ATCC 22214, та його складових: діацетильовані лактонові софороліпіди (C_{18:1}) та неацетильовані кислотні софороліпіди (C_{18:1}). Визначення активності відбувалось по відношенню до *Bacillus subtilis* LMG 2099, *Staphylococcus aureus* LMG 8224, *Escherichia coli* MG 1655, *Pseudomonas aeruginosa* LMG 24986 та *Candida albicans* SC 5314. Не для всіх мікроорганізмів вдалося визначити показники МІК (вище діапазону дослідження), але з отриманих результатів можна зробити висновок, що лактонові софороліпіди проявляють кращі показники, ніж кислі софороліпіди та суміші даних компонентів. Так, лактонові софороліпіди характеризуються такими показниками МІК (г/л): 3,75, <0,5, 0,47, 7,7 для *E. coli* MG 1655, *B. subtilis* LMG 2099, *S. aureus* LMG 8224 та *C. albicans* SC 5314, відповідно.

Ліпопептиди

Нині збільшується кількість досліджень, пов'язаних із вивченням та дослідженням активності поверхнево-активних речовин, які входять до класу ліпопептидів, а саме – сурфактинів. Дані речовини відзначаються хорошими антибактеріальними властивостями через свій механізм дії, який полягає в

руйнуванні бактеріальної мембрани [28]. Зазвичай дані ПАР синтезуються представниками роду *Bacillus* [29-32].

Hornig зі співавторами [29] провели порівняння активності комерційно доступного сурфактину з *Bacillus subtilis* та сурфактину, отриманого при культивуванні *Bacillus licheniformis* ATCC 12713 проти *Clostridium perfringens* ATCC 13124. Було встановлено, що сурфактини *B. licheniformis* проявляють кращу антимікробну активність в порівнянні з сурфактином *B. subtilis*: інгібування росту *C. perfringens* при концентрації сурфактинів 500 мкг/мл відбувається на 62 % та 25 %, відповідно. Незважаючи на кращі показники інгібування росту за рахунок наявності в комплексі ПАР *B. licheniformis* тільки одного схожого компонента з комплексом ПАР *Bacillus subtilis* (при ідентифікації сурфактину *B. licheniformis* було виявлено тільки один хроматографічний пік, схожий з *B. subtilis*, який відповідав сурфактину С), зона затримки росту в результаті дії сурфактину *B. licheniformis* менша, ніж у результаті дії сурфактину *B. subtilis* – 1,1 та 1,3 см, відповідно при концентрації 500 мкг/мл.

Також у 2019 році *Krishnan* зі співавторами [30] провели дослідження з виявлення протигрибкової активності сурфактину, екстрагованого з *Brevibacillus brevis* KN8(2), по відношенню до *Fusarium moniliforme* ITCC 4916. В результаті було виявлено, що 50 мкг/мл сурфактину отриманого з *Brevibacillus brevis* KN8(2) стримує ріст *F. moniliforme* в зоні 14 мм.

Lv зі співавторами [31] досліджували вплив комплексу ПАР, отриманого при вирощуванні *Bacillus amyloliquefaciens* C-1 на *Clostridium difficile*. В ході аналізів було встановлено, що комплекс ПАР складається з сурфактину, ітуруину та фенгіцину, які разом проявляють гарні антибактеріальні властивості по відношенню до *Clostridium difficile*. Так, показник МІК для *C. difficile* ATCC 9689, ATCC 700057 та ATCC ВАА-1870 становив 0,75, 2,5 і 2,5 мкг/мл, а зона затримки росту при концентрації 15 мкг/мл – 22,00, 11,50 та 10,50 мм, відповідно.

В 2019 році [32] вчені ідентифікували новий штам *Bacillus safensis* F4 та отримали при його вирощуванні сурфактини. Під час дослідів було встановлено мінімальну інгібуючу концентрацію для *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* ATCC 9144, *Enterococcus faecium*, *Salmonella enterica* CIP 80.39, *Escherichia coli* ATCC 10536, які відповідно становили: 0,78, 1,56, 3,125 та 3,125 мг/мл.

Також існує низка досліджень, присвячених вивченню інших видів поверхнево-активних речовин класу ліпопептидів, що продемонстровано в статтях [33-35].

В роботі [33] розглянуто антибактеріальну активність ліпопептидних ПАР виділених з *Bacillus subtilis* VSG4 і *Bacillus licheniformis* VS16. Зону інгібування росту отриманих ПАР досліджували при концентрації 5 мг/мл для *Staphylococcus aureus* ATCC 29523, *Bacillus cereus* MTCC 7190, *Escherichia coli* MTCC 65, *Salmonella typhimurium* ATCC19430 та *Vibrio parahaemolyticus* MTCC735. Так, ПАР отримані при вирощуванні *Bacillus subtilis* VSG4 демонстрували наступну зону затримки росту для *S. aureus* ATCC 29523 – 9,2 мм, *B. cereus* MTCC 7190 – 12,4 мм, *E. coli* MTCC 65 – 13 мм, *S. typhimurium* ATCC19430 – 11,6 мм та *V. parahaemolyticus* MTCC735 – 7,42 мм. ПАР отримані з *Bacillus licheniformis* VS16 затримували ріст для *S. aureus* ATCC 29523 в зоні 12,6 мм, *B. cereus* MTCC 7190 – 10,7 мм, *E. coli* MTCC 65 – 9,4 мм, *S. typhimurium* ATCC19430 – 8,1 мм та *V. parahaemolyticus* MTCC735 – 9,04 мм.

В 2019 році *Clements* з співавторами [34] провели дослідження направлені на встановлення антимікробних властивостей ПАР отриманих з малодослідженого роду *Serratia*. Так усі ізольовані штами *S. marcescens* продукували ліпопептидні ПАР, відомі як серраветтини, визначення антимікробних властивостей проводили для трьох штамів, а саме *S. marcescens* P1, *S. marcescens* NP1 та *S. marcescens* NP2, на широкому спектрі патогенних мікроорганізмів. Було встановлено, що неочищений екстракт отриманий *S. marcescens* P1 при концентрації 1 мг/мл мав найкращі

результати та проявляв наступні показники затримки росту для *Escherichia coli* (ATCC 13706) – 17 мм, *Legionella pneumophila* (ATCC 33152) – 12,7 мм, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) – 15 мм, *P. aeruginosa* (S1 68) – 18 мм, *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606) – 12,3 мм, *Bacillus cereus* (ATCC 10876) – 12,3 мм, *B. cereus* (S1 77) – 18,3 мм, *Enterococcus faecalis* (ATCC 7080) – 15,0 мм, *E. faecalis* (S1) – 18,0 мм, *Listeria monocytogenes* (ATCC 13932) – 20,7 мм, *L. monocytogenes* (G1) – 24,7 мм, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) – 14,0 мм, *Staphylococcus equorum* (SP2) – 22,3 мм, *Candida albicans* (ATCC 66027) – 25,0 мм, *C. albicans* (CAB8911) – 12,3 мм, *C. albicans* (CAB1085) – 14,3 мм, *Cryptococcus neoformans* (CAB831) – 12,0 мм, *C. neoformans* (CAB1055) – 12,6 мм, *C. neoformans* (CAB844) – 13,0 мм, а також по відношенню до мультирезистентного штаму *P. aeruginosa* (PA3) – 18,0 мм та по відношенню до штаму з надзвичайною стійкістю до ліків *A. baumannii* (AB3) – 9,7 мм. Неочищений екстракт *S. marcescens* NP2 при концентрації 1 мг/мл майже не проявляв антифунгальні властивості та затримував ріст тільки у *C. neoformans* (CAB1055) зона інгібування становила 7,7 мм, по відношенню до бактерій проявляє кращі результати але набагато гірші ніж *S. marcescens* P1 так для *L. longbeachae* (ATCC 33462) зона затримки росту становила 12 мм, *P. aeruginosa* (PA3) – 11 мм, *A. baumannii* (ATCC 19606) – 10 мм, *A. baumannii* (AB3) – 14 мм, *B. cereus* (S1 77) – 12,7 мм, *Bacillus sp.* (S8 38) – 8,7 мм, *L. monocytogenes* (G1) – 17,7 мм. Неочищений екстракт *S. marcescens* NP1 затримує ріст у *L. pneumophila* (ATCC 33152) на 13,7 мм, *P. aeruginosa* (ATCC 27853) – 14,7 мм, *P. aeruginosa* (S1 68) – 15,0 мм, *P. aeruginosa* (PA3) – 11 мм, *A. baumannii* (ATCC 19606) – 12,3 мм, *B. cereus* (ATCC 10876) – 10,3 мм, *B. cereus* (S1 77) – 15,7 мм, *E. faecalis* (ATCC 7080) – 12,7 мм, *E. faecalis* (S1) – 16,7 мм, *L. monocytogenes* (ATCC 13932) – 21 мм, *S. aureus* (ATCC 25923) – 19 мм, *S. aureus* (MRSA) (Xen 30) – 14,0 мм, *C. albicans* (ATCC 66027) – 15,0 мм, *C. albicans* (CAB8911) – 11,3 мм, *C. albicans* (CAB1085) – 12,6 мм, *Cryptococcus neoformans* (CAB831) – 12,0 мм, *C. neoformans* (CAB1055) – 11,3 мм, *C. neoformans* (CAB844) – 15,0 мм.

В 2022 році [35] науковці дослідили можливість *Rhodococcus opacus* R7 до синтезу ПАР. Отримані поверхнево-активні речовини класифікували як гідрофобний пептид, також визначили мінімальну інгібуючу концентрацію для *Escherichia coli* (ATCC 29522) та *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), який становив 2,6 мг/мл та 1,7 мг/мл, відповідно. Узагальнені дані властивостей розглянутих мікроорганізмів наведено в табл. 1.1 та табл. 1.2.

Антифунгальна активність мікробних поверхнево-активних речовин

Хімічна природа ПАР	Продуцент ПАР	Тест-культура	Концентрація ПАР, мкг/мл	Антимікробна активність			Література
				Інгібування росту, %	Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК), мг/мл	Зона затримки росту, мм	
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>
Рамноліпіди	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SS14	<i>Trichophyton rubrum</i> MTCC 8477	500	65			12
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SS14	<i>Candida tropicalis</i> MTCC 1000			0,25		13
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SS14	<i>Trichophyton rubrum</i> MTCC 847			0,5		14
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> NCCPF 800049				0,125			
Софороліпіди	<i>Rhodotorula babjevae</i> YS3	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> NCCPF 800049			1		23
	<i>Metschnikowia churdharensis</i> CIG-6A ^T	<i>Fusarium solani</i> MTCC 350			0,049		25
	<i>Starmerella bombicola</i> ATCC 22214	<i>Candida albicans</i> SC 5314			7,7		27
Ліпопептиди	<i>Brevibacillus brevis</i> KN8(2)	<i>Fusarium moniliforme</i> ITCC 4916	50			14,0	30

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>
Ліпопептиди	<i>Serratia marcescens</i> P1	<i>Candida albicans</i> ATCC 66027	1 000			25,0	34
		<i>Candida albicans</i> CAB8911				12,3	
		<i>Candida albicans</i> CAB1085				14,3	
		<i>Cryptococcus neoformans</i> CAB831				12,0	
		<i>Cryptococcus neoformans</i> CAB1055				12,6	
		<i>Cryptococcus neoformans</i> CAB844				13,0	
	<i>Serratia marcescens</i> NP2	<i>Cryptococcus neoformans</i> CAB1055	1 000			7,7	
	<i>Serratia marcescens</i> NP1	<i>Candida albicans</i> ATCC 66027	1 000			15,0	
		<i>Candida albicans</i> CAB8911				11,3	
		<i>Candida albicans</i> CAB1085				12,6	
		<i>Cryptococcus neoformans</i> CAB831				12,0	
		<i>Cryptococcus neoformans</i> CAB1055				11,3	
		<i>Cryptococcus neoformans</i> CAB844				15,0	

Антибактеріальна активність мікробних поверхнево-активних речовин

Хімічна природа ПАР	Продуцент ПАР	Тест-культура	Концентрація ПАР, мкг/мл	Антимікробна активність			Література
				Інгібування росту, %	Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК), мг/мл	Зона затримки росту, мм	
1	2	3	4	5	6	7	8
Рамноліпіди	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SG	<i>Escherichia coli</i> DH5α	200			21,0	15
		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538				32,0	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DKB1	<i>Escherichia coli</i> MTCC 96	30		0,020	22,0	16
		<i>Vibrio cholerae</i> ATCC 14035			0,015	24,0	
		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633			0,008	26,0	
		<i>Streptococcus mutant</i> NCIM 2063				16,0	
		<i>Klebsiella pneumoniae</i> MTCC 432				17,0	
		<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212			0,015	22,0	
		<i>Enterobacter aerogenes</i> MTCC 111			0,015	23,0	
		<i>Streptococcus pneumoniae</i> MTCC 655				17,0	
<i>Salmonella typhi</i> MTCC 733			17,0				
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923				20,0			

1	2	3	4	5	6	7	8	
Рамноліпіди	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> BP03	<i>Bacillus subtilis</i>	100			47,0	17	
		<i>Staphylococcus aureus</i>				44,0		
		<i>Escherichia coli</i>				40,0		
		<i>Aeromonas hydrophila</i>				39,0		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 89	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538				0,06		18
		<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 35984				0,12		
	<i>Lactobacillus casei</i> <i>subsp. casei</i> TM1B	<i>Bacillus subtilis</i> BC1				3,22		19
	<i>Planococcus rifietoensis</i> IITR53	<i>Clostridium perfringens</i> MTCC 450	40 000		50			20
		<i>Vibrio cholerae</i> MTCC 3904			72			
	<i>Planococcus halotolerans</i> IITR55	<i>Clostridium perfringens</i> MTCC 450	40 000		53			
<i>Vibrio cholerae</i> MTCC 3904				55				
Софороліпіди	<i>Candida albicans</i> SC5314	<i>Escherichia coli</i> MTCC 723	60			3,6	22	
		<i>Bacillus subtilis</i> MTCC 441				24,5		
	<i>Candida glabrata</i> CBS138	<i>Escherichia coli</i> MTCC 723	60			4,4		
		<i>Bacillus subtilis</i> MTCC 441				65		
	<i>Rhodotorula rubra</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	20			21,1		24
		<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922				24,4		

1	2	3	4	5	6	7	8
Софороліпіди	<i>Metschnikowia churdharensis</i> CIG-6A ^T	<i>Bacillus subtilis</i> MTCC 9490			0,001		25
		<i>Staphylococcus aureus</i> MTCC 1430			0,005		
		<i>Klebsiella pneumoniae</i> MTCC 618			0,012		
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MTCC 1934			0,018		
	<i>Starmerella bombicola</i> ATCC 22214	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 9144	150	97	0,15		26
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	350	82			
	<i>Starmerella bombicola</i> ATCC 22214	<i>Escherichia coli</i> MG 1655			3,75		27
		<i>Bacillus subtilis</i> LMG 2099			0,5		
		<i>Staphylococcus aureus</i> LMG 8224			0,47		
Ліпопептиди	<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 12713	<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	500	62		11,0	29
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> C-1	<i>Clostridium difficile</i> ATCC 9689	15		0,00075	22,0	31
		<i>Clostridium difficile</i> ATCC 700057		0,0025	11,5		
		<i>Clostridium difficile</i> ATCC BAA-1870		0,0025	10,5		
	<i>Bacillus safensis</i> F4	<i>Bacillus subtilis</i>			0,78		32
		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 9144			1,56		
		<i>Enterococcus faecium</i>			1,56		
		<i>Salmonella enterica</i> CIP 80.39			3,125		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536				3,125			

1	2	3	4	5	6	7	8
Ліпопептиди	<i>Bacillus subtilis</i> VSG4	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29523	5 000			9,2	33
		<i>Bacillus cereus</i> MTCC 7190				12,4	
		<i>Escherichia coli</i> MTCC 65				13,0	
		<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC19430				11,6	
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i> MTCC735				7,42	
	<i>Bacillus licheniformis</i> VS16	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29523	5 000			12,6	
		<i>Bacillus cereus</i> MTCC 7190				10,7	
		<i>Escherichia coli</i> MTCC 65				9,4	
		<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC19430				8,1	
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i> MTCC735				9,04	
<i>Rhodococcus opacus</i> R7	<i>Escherichia coli</i> ATCC 29522			2,6	35		
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538			1,7			
Ліпопептиди	<i>Serratia marcescens</i> NP2	<i>Legionella longbeachae</i> ATCC 33462	1 000			12,0	34
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA3				11,0	
		<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606				10,0	
		<i>Acinetobacter baumannii</i> AB3				14,0	
		<i>Bacillus cereus</i> S1 77				12,7	
		<i>Bacillus sp.</i> S8 38				8,7	
		<i>Listeria monocytogenes</i> G1				17,7	

1	2	3	4	5	6	7	8
	<i>Serratia marcescens</i> P1	<i>Escherichia coli</i> ATCC 13706	1 000			17,0	34
		<i>Legionella pneumophila</i> ATCC 33152				12,7	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853				15,0	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> S1 68				18,0	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA3				18,0	
		<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606				12,3	
		<i>Acinetobacter baumannii</i> AB3				9,7	
		<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876				12,3	
		<i>Bacillus cereus</i> S1 77				18,3	
		<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 7080				15,0	
		<i>Enterococcus faecalis</i> S1				18,0	
		<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 13932				20,7	
		<i>Listeria monocytogenes</i> G1				24,7	
		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923				14,0	
	<i>Staphylococcus equorum</i> SP2			22,3			

1	2	3	4	5	6	7	8
	<i>Serratia marcescens</i> NP1	<i>Legionella pneumophila</i> ATCC 33152	1 000			13,7	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853				14,7	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> S1 68				15,0	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA3				11	
		<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606				12,3	
		<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876				10,3	
		<i>Bacillus cereus</i> S1 77				15,7	
		<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 7080				12,7	
		<i>Enterococcus faecalis</i> S1				16,7	
		<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 13932				21	
		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923				19	
		<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)(Xen 30)				14,0	

1.2. Здатність до руйнування біоплівок

Окрім антимікробних властивостей, поверхнево-активні речовини володіють також здатністю руйнувати біоплівки мікроорганізмів, що було продемонстровано в ряді досліджень [13, 14, 17, 18, 23, 33, 35-39].

Рамноліпіди

У 2019 році [13] вчені дослідили можливість використання відходів зерна після спиртового виробництва в якості дешевого поживного середовища для синтезу ПАР. При вирощуванні *Pseudomonas aeruginosa* SS14 на такому поживному середовищі вчені отримали суміш рамноліпідів, яка складається з моно/(ди)рамноліпідів (Rha-C_{18:2}, Rha-C₁₉, Rha-C₉ та Rha-Rha-C₁₉), та дослідили антибіоплівковий ефект отриманих рамноліпідів по відношенню до *Candida tropicalis* MTCC 1000. В результаті сформована біоплівка впродовж 24 год, при концентрації рамноліпідів 1 мг/мл руйнується на 95 %.

В 2020 році [14] Sen з співавторами провели визначення впливу отриманих рамноліпідів при вирощуванні *Pseudomonas aeruginosa* SS14 на вуглецевому субстраті з гліцерину по відношенню до сформованої біоплівки (96 год) *Trichophyton rubrum* MTCC 847 та *Trichophyton mentagrophytes* NCCPF 800049. Результати досліджень продемонстрували, що при концентрації рамноліпідів 0,25 мг/мл, показник руйнування біоплівки *T. rubrum* MTCC 847 становив 70 %, а для *T. mentagrophytes* NCCPF 800049, при концентрації 2 мг/мл, показник становив 78 %.

Sabarinathan з співавторами в 2020 році [17] дослідили антибіоплівковий ефект рамноліпідів по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* та *Aeromonas hydrophila*. Рамноліпіди були отримані при вирощуванні *Pseudomonas plecoglossicida* BP03 на стічних водах рисового заводу. В результаті дослідження при концентрації 100 мкг/мл руйнування біоплівки *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* та *Aeromonas hydrophila* становило 83,5 %, 75,4 % та 74,4 %, відповідно.

В 2019 році вчені провели дослідження [18] спрямовані на визначення антибіоплівкових властивостей рамноліпиду R89 отриманого за допомогою *Pseudomonas aeruginosa* 89 по відношенню до *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 та *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984. Так під час дослідів було визначено показник руйнування біоплівки даних мікроорганізмів при різних концентраціях ПАР, для попередньо сформованої біоплівки впродовж 24 год проявлялись найкращі результати при концентрації 2 мг/мл, *Staphylococcus aureus* зменшення біоплівки становило 89 %, а для *S. epidermidis* – 96 %.

Tambone з співавторами [36] також провели дослідження спрямоване на визначення антибіоплівкового ефекту рамноліпідів отриманих за допомогою *Pseudomonas aeruginosa* 89 по відношенню до *Staphylococcus aureus* та *Staphylococcus epidermidis*, на титанових пластинах/імплантах. Під час дослідження на дисках з титанового сплаву Ti6Al4V, вчені визначили, що при концентрації 4 мг/мл, ПАР призводили до руйнування біоплівки *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 на 98,6 %, 46,9 % і 7 % та *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 на 54,1 %, 29,3 % і 10,3 %, сформованої протягом 24, 48 та 72 годин, відповідно. А також було проведено дослідження з використанням комерційних титанових імплантів, на яких показник руйнування біоплівки при використанні рамноліпідів в концентрації 4 мг/мл по відношенню до сформованої протягом 24 год біоплівки *S. aureus* ATCC 6538 перебував в діапазоні 91,3 – 97,8 %, в той час як руйнування біоплівки *S. epidermidis* ATCC 35984 було в діапазоні 62,4 – 78,1 %.

Софороліпіди

В 2020 році *Ceresa* зі співавторами [37] дослідили антибіоплівковий ефект софороліпідів, продукованих дріжджами *Candida bombicola* ATCC 22214. У результаті вирощування біологічного агента було отримано кислі та лактонові софороліпіди. Визначення руйнування біоплівки відбувалось, як для суміші даних софороліпідів (SLV), яку отримували після культивування, так і для окремих компонентів – кислих (SLA) та лактонових софороліпідів (SL18), з використанням *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas*

aeruginosa ATCC 10145 і *Candida albicans* IHEM 2894 як тест-культур. При концентрації 0,1 % мас./об. для *S. aureus*, *P. aeruginosa* та *C. albicans* найкращі результати демонструє SLV, руйнуючи біоплівку на 70 %, 75 % та 80 %, відповідно.

Sen зі співавторами [23] проводили дослідження, направлені на виявлення впливу софороліпідів, отриманих вирощуванням *Rhodotorula babjevae* YS3 на *Trichophyton mentagrophytes*, який викликає дермотрофію. В результаті було встановлено, що при концентрації софороліпідів 2 мг/мл відбувається руйнування біоплівки сформованої протягом 96 год на 85 %.

Alfan зі співавторами [38] встановили протигрибкову активність софороліпідів, синтезованих *Starmerella riodocensis* GT-SL1R. Дана культура при рості на середовищі з пальмовою олією та глюкозою синтезує кислі та лактонові форми софороліпідів. Отримані ПАР при концентрації 125 мкг/мл пригнічують на 50 % біоплівку *Candida albicans* ATCC 90,028 (отриману через 1,5 год росту), а при концентрації 500 мкг/мл викликають зменшення зрілої біоплівки на 50 % через 24 год.

В 2021 році *Mendes* з співавторами [39] дослідили антибіоплівковий ефект софороліпідів отриманих при вирощуванні *Starmerella bombicola* CBS 6009, по відношенню до *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Під час дослідів було встановлено що при концентрації 100 мкг/мл відбувається руйнування біоплівки *Staphylococcus aureus* на 98 %.

Ліпопептиди

В попередньому розділі згадувалося дослідження [33] в якому розглядали антибактеріальні властивості ліпопептидних ПАР виділених з *Bacillus subtilis* VSG4 і *Bacillus licheniformis* VS16, також в даному дослідженні вчені дослідили руйнування біоплівки даними ПАР на попередньо сформованих протягом 48 год бактеріальних біоплівках. Так при концентрації ПАР 5 мг/мл отриманий з *B. subtilis* VSG4 руйнував біоплівку *Salmonella typhimurium* ATCC 19430 на 76,5 %, *Staphylococcus aureus* ATCC 11778 – 71,8 % та *Escherichia coli* MTCC 65 – 63,9 %, в той час як ПАР

отриманий з *B. licheniformis* VS16 руйнував біоплівку *S. typhimurium* ATCC 19430 на 61,1 %, *S. aureus* ATCC 11778 – 67,4 %, *E. coli* MTCC 65 – 63,9 %.

Таблиця 1.3

Руйнування біоплівок дріжджів та грибів за дії мікробних поверхнево-активних речовин

Хімічна природа ПАР	Продуцент ПАР	Тест-культура	Концентрація ПАР, мкг/мл	Руйнування біоплівки, %	Література
Рамноліпіди	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SS14	<i>Candida tropicalis</i> MTCC 1000	1 000	95	13
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SS14	<i>Trichophyton rubrum</i> MTCC 847	2 000	70	14
		<i>Trichophyton mentagrophytes</i> NCCPF 800049	250	78	
Софороліпіди	<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	<i>Candida albicans</i> IHEM 2894	1 000	80	37
	<i>Rhodotorula babjevae</i> YS3	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> NCCPF 800049	2 000	85	23
	<i>Starmerella riodocensis</i> GT-SL1R	<i>Candida albicans</i> ATCC 90,028	500	50	38

Руйнування бактеріальних біоплівки за дії мікробних поверхнево-активних речовин

Хімічна природа ПАР	Продуцент ПАР	Тест-культура	Концентрація ПАР, мкг/мл	Руйнування біоплівки, %	Література
Рамноліпіди	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> BP03	<i>Staphylococcus aureus</i>	100	83,5	17
		<i>Escherichia coli</i>		75,4	
		<i>Aeromonas hydrophila</i>		74,4	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 89	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	2 000	89	18
		<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 35984		96	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 89	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	4 000	91,3	36
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 35984		62,4			
Софороліпіди	<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	1 000	70	37
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145		75	
	<i>Starmarella bombicola</i> CBS 6009	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	100	98	39
Ліпопептиди	<i>Bacillus subtilis</i> VSG4	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 19430	5 000	76,5	33
		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 11778		71,8	
		<i>Escherichia coli</i> MTCC 65		63,9	
	<i>Bacillus licheniformis</i> VS16	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 19430	5 000	61,1	
		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 11778		67,4	
		<i>Escherichia coli</i> MTCC 65		63,9	

РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ БІОСИНТЕЗУ МІКРОБНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН БІМЕДИЧНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ

2.1. Особливості біосинтезу рамноліпідів

В роботі *Liu* за 2020 рік відзначається вадлива роль олій, як джерела вуглецю. Автор наголошує, що деградація олій є ключовим фактором, що впливає на кінцеву концентрацію зазначених ПАР. Основну роль у метаболічному процесі перетворення олій на рамноліпіди відіграють ліпази, які розкладають тригліцериди до гліцерину та жирних кислот, які в подальшому залучаються до синтезу рамноліпідів через цикл трикарбонових кислот та гліколіз. На основі генно-інженерного штаму *P. aeruginosa* KT1115 було визначено основні ферменти, які відіграють важливу роль для синтезу бажаних ПАР, до яких відносяться ацил-гомосеринлактонсинтаза (*RhlI*), 3-(3-гідроксіалканоїлокси)алканоатсинтетаза (*RhlA*), глюкозо-1-фосфаттимідилтрансфераза (*RmlA*) і dTDP-4-дегідрманноза (TDP-дезокситимідин дифосфат) 3,5-епімераза (*RmlC*). На рис.2.1. зображена скорочена схема трансформації олій рамноліпіди [40].

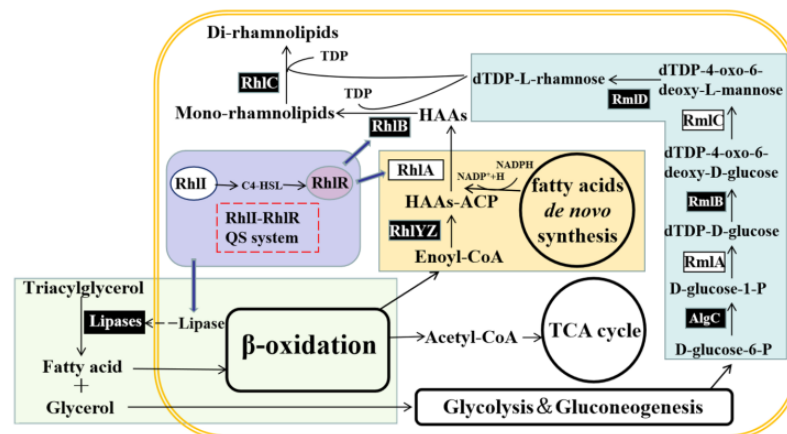


Рис.2.1. Метаболічна узагальнена схема синтезу рамноліпідів з олій [40]

					НУХТ БТЕК КР 02.01.03 ПЗ		
ЗМН	Арк.	№	Підпис	Дат			
Розроб.	Павлієнко				Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.	Пирог Т.П.					32	17
Н. Контр.					35		
Затверд.	Стабніков				Кафедра БТМ		
					РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ БІОСИНТЕЗУ МІКРОБНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН БІМЕДИЧНОГО		

Ферменти: *RhlA* - 3-(3-гідроксіалканоїлокси)алканоатсинтетаза, *RhlB* - рамнозилтрансфераза, *RhlC* - рамнозилтрансфераза, *RhlyZ* - R-специфічний комплекс еноіл-КоА гідратази, *AlgC* - фосфоманномутаза, *RmlA/RmlB/RmlC/RmlD* ферменти в шляху синтезу рамнози, *RhlI* - ацилгомосеринлактонсинтаза, *RhlR* - транскрипційний регулятор [40].

Взагалі, до синтезу рамноліпідів здатні не лише *P. aeruginosa*, а й такі мікроорганізми, як *Acinetobacter calcoaceticus*, *Enterobacter* spp., *Burkholderia* spp. і *Nocardiosis* sp.. Для кожного виду притаманний свій набір ферментів для синтезу рамноліпідів, проте нещодавно бу визначено ключові ензими, які беруть участь у синтезі зазначених ПАР [41]. Їх характеристика наведена в табл.2.1.

Таблиця 2.1.

Ключові ферменти, які застосовуються під час біосинтезу рамноліпідів [41]

Фермент (скорочена назва)	Повна назва	Функції
<i>ALgC</i>	Фософо-манномутаза	Бере участь у синтезі НАА, димерів жирних кислот, з двох попередників 3-гідроксижирних кислот.
<i>RmlA</i>	Глюкозо-1-фосфат-тимідитрансфераза	Сприяє перенесенню тимідилдифосфатного нуклеотиду (TDP) до глюкозо-1-фосфату з утворенням dTDP-D-глюкози.
<i>RmlB</i>	dTDP-D-глюкоза-4,6-дегідратаза	Каталізує процес окислення, який відбувається для перетворення dTDP-D-глюкози в dTDP-4-кето-6-дезоксі-D-глюкозу.
<i>RmlC</i>	dTDP-4-дегідрамноза-3,5-епімераза-4,6-дегідратаза	Каталізує епімеризацію C3 і C5 в dTDP-4-кето-6-дезоксі-D-глюкозі, що призводить до утворення dTDP-4-кето-6-дезоксі-L-манози.
<i>RmlD</i>	dTDP-4-дегідрамнозо-редуктаза	Допомагає в остаточному формуванні dTDP-L-рамнози.
-	Ацетил-КоА-карбоксилаза	Спочатку синтезує ацетил-КоА в малоніл-КоА.

<i>FabB, F</i>	Бета-кетоацил-АСР-редуктаза	Каталізує конденсацію між малоніл-АСР і ацил-АСР, <i>FabB</i> для насичених жирних кислот і <i>FabF</i> для ненасичених.
<i>FabG</i>	Залежна від <i>FabG</i> NADPH еноіл-АСР-редуктаза	Допомагає каталізувати бета-кетоніл у бета-гідроксилацил-АСР.
<i>FabA, Z</i>	Бета-гідроксилацил-АСР дегідратаза	Каталізує дегідратацію β-гідроксиацил-АСР з утворенням транс-2-еноіл-АСР.
<i>FabI</i>	НАДН-залежна еноіл-АСР-редуктаза	Відновлює транс-2-еноіл-АСР до ацил-АСР.
<i>RhIA</i>	3-(3-гідроксіалконілокси) алканоатсинтетаза	Бере участь у синтезі НАА, димерів жирних кислот, з двох попередників 3-гідроксижирних кислот.
<i>RhIB</i>	рамнозитрансфераза I	Використовує dTDP-L-рамнозу та молекулу НАА як попередники для отримання монорамноліпідів.
<i>RhIC</i>	Моно-амноліпід рамнозитрансфераза II	З'єднується з іншою молекулою dTDP-L-рамнози, утворюючи дирамноліпіди з його допомогою.

В іншій роботі 2020 року від *Nawrath* намагались замінити умовно-патогенний штам *P. aeruginosa* на непатогенний генно-інженерний штам на основі *Pantoea* sp. P37. Проте, кінцеві концентрації рамноліпідів були суттєво нижчими. Дослідники прийшли до висновку щодо важливості внесення великої кількості попередників для синтезу зазначених ПАР, з яких велику увагу приділяють саме оліям. Експеримент показав, що саме джерело карбону є лімітувальним фактором синтезу рамноліпідів в *Pantoea* sp. P37. Також, як обмежуючий фактор, виділяють токсичність рамноліпідів, що пригнічує клітини зазначеного мікроорганізму [42].

Для штамів *P. putida* відзначається можливість застосування етанолу як одного з основних джерел вуглецю, оскільки він перетворюється на ацетил-КоА, який в подальшому залучається до синтезу жирних кислот. Таке рішення дозволяє зменшити утворення побічних продуктів з пірувату і

збільшити кінцевий вихід рамноліпідів. Етанол має перевагу перед оліями, які, як було вже зазначено, є важливим джерелом вуглецевого живлення, оскільки він краще розчиняється у воді, що пришвидшує подальші процеси біосинтезу [43].

Дослідження 2022 року показують можливість використання ароматичних сполук, одержаних з лігніну, як джерел для синтезу рамноліпідів. Дикі штами *P. taiwanensis* здатні рости на гідроксибензоаті і ванілаті, а їх генно-модифіковані похідні – ще й на 4-кумараті та ферулаті. Дані сполуки трансформуються до ацетил-КоА з якого синтезуються жирні кислоти, подібно до етанолу. А самі рамноліпідиди синтезуються під дією *RhlA* та *RhlB* [44].

Штами *P. aeruginosa* можуть використовувати відпрацьовану ріпакову олію для синтезу рамноліпідів. У дослідженні продемонстрована роль співвідношення джерел карбону та азоту. Найвищий вихід відзначається при 30 г/л відпрацьованої олії та 4 г/л NaNO₃ (найвищі концентрації компонентів, використані в експерименті). Отже, на біосинтез рамноліпідів впливає не лише джерело карбону, а й азотне живлення [45].

Щоб отримати велику кількість рамноліпідних біоповерхнево-активних речовин, важливо оптимізувати умови навколишнього середовища біопроцесу, такі як рН, температура, аерація та швидкість перемішування. Повідомлялося, що максимальна продукція рамноліпідів *P. aeruginosa* спостерігалася в діапазоні рН від 6 до 6,5 і продукція різко зменшувалася при підвищенні рН вище 7. У той час як температура, за якої досягається високий еквівалент рамноліпідів, становила 37°C. Швидкість аерації та перемішування покращує перенесення кисню з газоподібної фази в рідку фазу, тому вони вважаються важливими факторами для виробництва рамноліпідів [41].

Оптимізація умов культивування *P. aeruginosa* показує важливість застосування кількох джерел вуглецевого живлення. Нерідко разом з оліями використовують й цукри для синтезу рамноліпідів, зазвичай глюкозу. Такий

підхід дозволяє одержати більшу кількість рамноліпідів, оскільки за такою схемою, олія окислюється та утворює жирні кислоти, не потребуючи додаткового перетворення з подальшим залученням до гліколізу, оскільки до нього залучається глюкоза [46]. Узагальнена схема цього процесу показано на рис. 2.2.

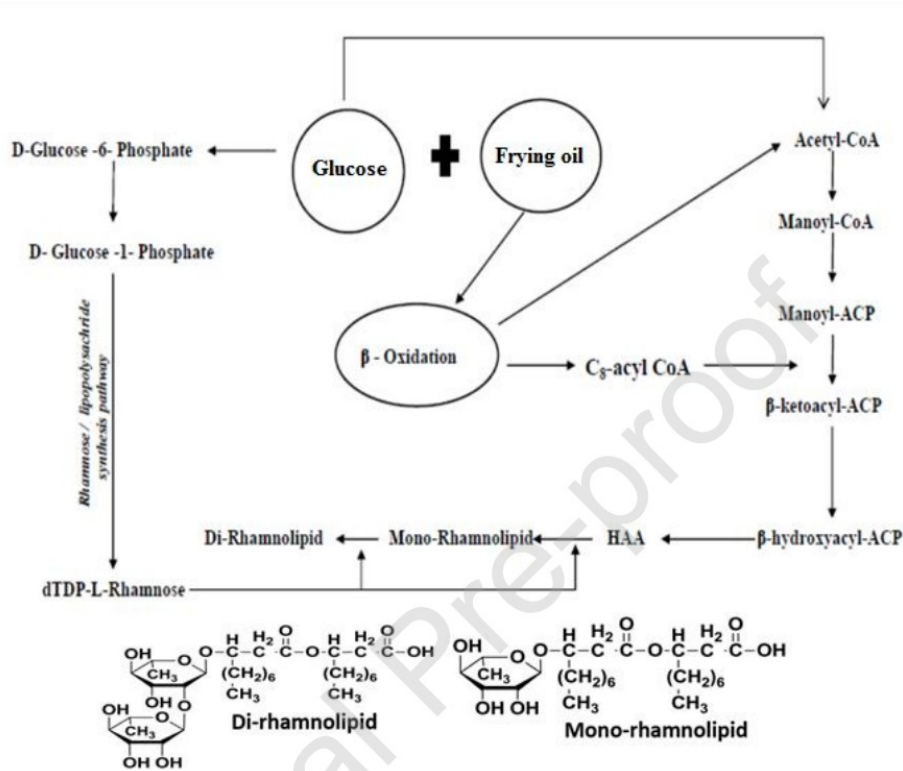


Рис.2.2. Метаболічна узагальнена схема синтезу рамноліпідів з олій та глюкози [46]

Окремо відзначається утворення піни при біосинтезі рамноліпідів. Проблема зазвичай виникає при культивуванні мікроорганізмів в середовищі, що містить цукор як основне джерело вуглецю. Використання олії або етанолу нівелює цей момент, оскільки є піногасниками. При цьому, утворення піни призводить до втрат біомаси, що еквівалентно втратам рамноліпідів, тому наразі велику увагу приділяють саме середовищам, що містить одночасно цукор з іншим поживним джерелом карбону, який володіє антипінними властивостями [47].

В роботі *Samadi* за 2023 рік було оптимізовано умови культивування *P. aeruginosa* PTCC 1340. Для одержання 10,13 г/л рамноліпідів умови

культивування є наступними: 80 /л соняшnikової олії, NaNO_3 як джерело азоту, внесення інокуляту в еквіваленті 7%, співвідношення карбону до нітрогену 200:1 та 200 об/хв. Це підтверджує інформацію, про потребу у внесенні великої кількості попередників, а також роль джерела азоту. Варто відмітити, що також прослідковується закономірність використання NaNO_3 як азотне джерело для синтезу рамноліпідів [48].

2.2. Особливості біосинтезу софороліпідів

Софороліпідви виробляються як позаклітинний компонент мікробними клітинами. Це велика амфифільна молекула, загальне виробництво, структура та склад якої залежать від кількох факторів. Головним критерієм є попередники, які використовуються у ферментаційному середовищі дріжджових клітин. Гідрофобне джерело вуглецю є основним фактором, що визначає тип утвореної молекули софороліпідви. Багаті поліненасиченими жирними кислотами субстрати (такі як соняшnikова або льняна олія) призводять до утворення більшої кількості кислих софороліпідів [49].

Іншим важливим фактором, що контролює склад софороліпідів, є природа алканів і субстратів, що використовуються в культуральному середовищі. Зазвичай довжина ланцюга 16–18 атомів вуглецю є найбільш бажаною. Кількість і природа джерел азоту, а також загальний відсоток C/N культурального середовища контролює різноманітність і кількість накопичення софороліпідів. Лактонова ізомерна структура зазвичай утворюється при дуже низьких кількостях дріжджового екстракту (як джерело N) у середовищі (1 г/л), тоді як більша кількість 20 г/л стимулює виробництво кислих ізомерів софороліпідів. Незалежно від методики культивування, більша тривалість мікробної ферментації та менша кількість дріжджового екстракту збільшують кількість утворених лактонових софороліпідів. Утворення лактонових форм зменшується через нестачу дріжджового екстракту та сечовини. Заміна сечовини на NaNO_3 сприяє утворенню кислих діацетильованих ізомерів, ймовірно, через затримку

стаціонарної фази, оскільки кислотні структури є попередниками лактонних форм [49].

В основному, для біосинтезу софороліпідів потрібні два типи будівельних блоків: дві молекули глюкози та одна жирна кислота. Відповідно, продукційне середовище бажано доповнювати як гідрофобним, так і гідрофільним джерелом вуглецю. Джерело гідрофільного вуглецю часто додають у середовище у вигляді глюкози або сахарози, але можна застосовувати й інші субстрати. Якщо немає гідрофобного субстрату, жирнокислотний каркас софороліпиду може бути синтезований *de novo*. Однак пряме введення вихідної форми доповнених субстратів, таких як рослинна олія, жирні кислоти, ефіри жирних кислот або алкани, виявляється набагато ефективнішим [50].

Фаза росту мікробних клітин і характер проведеної ферментації впливає на структурний склад. Співвідношення лактонова/кислотна кислотність софороліпідів змінюється протягом різних фаз мікробної ферментації. На початку домінують кислі структури, а на пізніх стадіях помічається перехід до ацетильованих і лактонних структур. Дослідники припускають, що в динамічно менш сприятливих обставинах утворюються більш кислі ізомери [49].

Подача кисню є обмежувальною та важливою змінною. Під час процесу бродіння підвищена інтенсивність аерації призводить до відсутності виходу деацетильованих хімічних структур із створенням величезних фракцій діацетильованих структур, а також підвищення частки лактонних форм. Ступінь ненасиченості софороліпідів можна регулювати протягом початкової фази процесу шляхом зміни параметрів оксигенації, хоча низькі концентрації оксигенації можуть збільшити частку насичених софороліпідів [49].

На рис.2.3. показано узагальнену схему синтезу софороліпідів з глюкози. На першому етапі жирні кислоти кінцево або субтермінально гідроксильються НАДФН-залежною монооксигеназою цитохрому P450. Це активує жирну кислоту для додавання глюкози за допомогою

глюкозилтрансферази I, використовуючи уридиндифосфат (UDP)-глюкозу як донорну молекулу. Друга глюкоза пов'язана з першою через глюкозил- β -(1,2)-глюкозилне зв'язування за допомогою глюкозилтрансферази II. Продукт

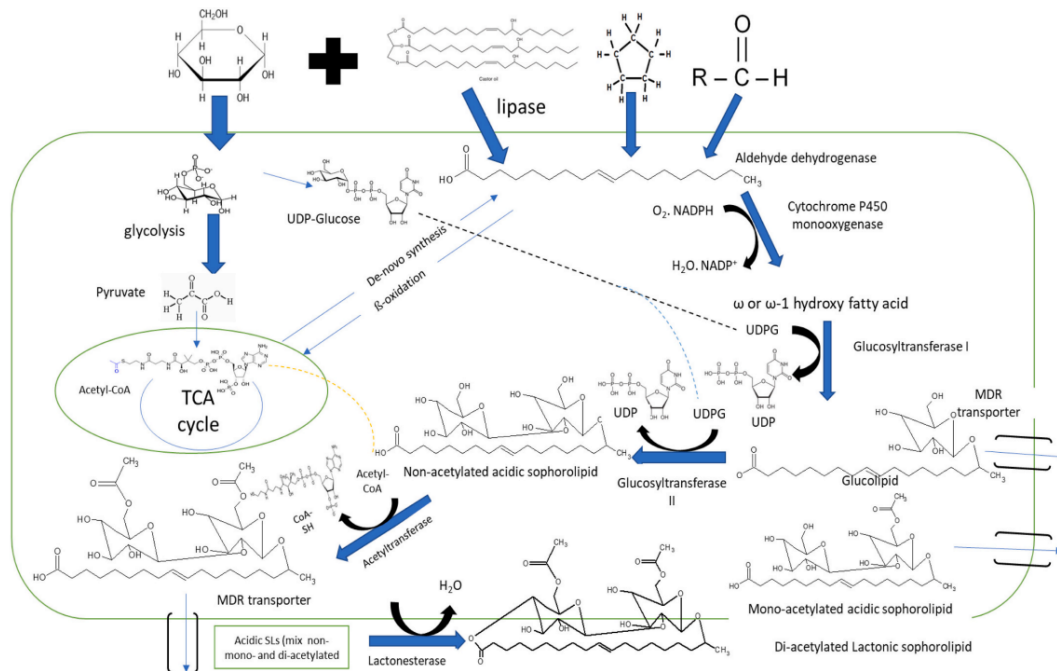


Рис.2.3. Узагальнена схема мікробного синтезу софороліпідів з глюкози [49]

другого глікозилування, неацетильований софороліпід, може бути додатково декорований однією або двома ацетильними групами в положенні С6' або С6'' фрагмента софорози. Цей процес опосередковується специфічною ацетилтрансферазою. Ацетильований або неацетильований софороліпід, потім розпізнається специфічним АВС-транспортером плазматичної мембрани і експортується в позаклітинний простір. Цей активний і дуже ефективний транспорт є однією з головних причин досягнення високих і комерційно значущих титрів софороліпідів. Після того, як молекула виходить із клітини, вона може бути лактонізована шляхом внутрішньої етерифікації між карбоксильною групою жирної кислоти та переважно гідроксильною групою софорози в положенні С4''. Фермент, відповідальний за цей процес,

був описаний лише нещодавно та позначений як зв'язана з клітинною стінкою лактонова естераза [50].

Синтез софороліпідів тісно пов'язаний з метаболізмом жирних кислот. Однак жирні кислоти також можуть метаболізуватися через шлях β -окислення, що передбачає конкуренцію за внутрішньоклітинні жирні кислоти між цими двома метаболічними шляхами. Відповідно до співвідношення жирних кислот у софороліпідах, титру софороліпідів та загального споживання олії підраховано, що лише 40% олій використовується для генерації софороліпідів [51].

При високій концентрації софороліпідів відзначається наявність у клітині гліоксилової, яблучної, аспарагінової, янтарної, α -кетоглутарової та лимонної кислоти, що каже про високу активність циклу трикарбонових кислот. У штаммах, які мають знижену синтезувальну дію щодо софороліпідів переважають піруват та аланін, що говорить про те, що джерело вуглецю використовується для побічних продуктів пірвіноградної кислоти, що призводить до зниження синтезу зазначених ПАР [51].

Загалом аналіз метаболічного профілю показує, що цикл трикарбонових кислот є важливим метаболічним шляхом у виробництві софороліпідів. Лимонну кислоту можна розщепити на оксалоацетат і ацетил-КоА, де останній є попередником софороліпідів, перетворюючи неацетильований софороліпід на ацетильований софороліпід. Таким чином, ацетил-КоА є ключовим метаболітом для виробництва софороліпідів, а метаболізм лимонної кислоти є ключовим метаболічним модулем, пов'язаним із синтезом софороліпідів [51].

Обмеження важливої сполуки, такої як азот (а також фосфор або сірка), спричиняє деградацію АМФ, важливого кофактора ізоцитратдегідрогенази, і в той же час інактивує цей фермент. Як наслідок, ізоцитратдегідрогеназа більше не здатна здійснювати перетворення ізоцитрату в α -кетоглутарат, що призводить до накопичення ізоцитрату, а згодом і цитрату в мітохондріях. Потім обидві кислоти транспортуються в цитозоль, зазвичай в обмін на

малат, де цитрат перетворюється на оксалоацетат і ацетил-КоА (попередник для синтезу жирних кислот) за допомогою АТФ-цитрат-ліази. Це перетворення вимагає споживання АТФ і коензиму А [50].

Також, для підвищення кінцевого титру софороліпідів нерідко використовують інгібітори ферментів. Малонат є інгібітором сукцинатдегідрогенази. Його інгібування може послабити цикл трикабонових кислот та сприяти накопиченню внутрішньоклітинного Ацетил-КоА, який є важливим попередником у синтезі жирних кислот. Збільшення внутрішньоклітинної ацетил-КоА може певною мірою покращити вихід софороліпідів [52].

Гліцеральдегід фосфатдегідрогеназа каталізує дегідрування та фосфорилування гліцеральдегід-3-фосфату в гліколізі і є важливим ферментом метаболізму цукру. Йодоцтова кислота пригнічує активність гліцеральдегід фосфатдегідрогеназу, тому гліколіз послаблюється, що, у свою чергу, посилює пентозофосфатний шлях, що призводить до збільшення внутрішньоклітинного пулу НАДФН і 5-фосфорибулози. НАДФН забезпечує відновлювальну потужність для реакції монооксигенази P450. З іншого боку, підвищена концентрація внутрішньоклітинної 5-фосфорибулози є сприятливою для росту клітин, дозволяючи більш раннє та тривале виробництво софороліпідів і таким чином підвищуючи їх кінцевий титр [52].

При конструюванні генно-інженерних штамів також звертають увагу на регуляцію важливих ферментів. Для синтезу софороліпідів одним з важливих ферментів виступає фосфоенолпіруваткарбоксікінази, що є логічним, оскільки цей фермент відповідає за синтез пірувату, з якого одержується ацетил-КоА. У випадку, коли основне джерело вуглецю не глюкоза, важливим ферментом є β -фруктофуранозідаза. β -Фруктофуранозідаза може сприяти метаболічному перетворенню сахарози або крохмалю в глюкозу, що посилює надходження глюкози до синтезу софороліпідів [53].

В таблиці 2.2. показано важливі ферменти, які задіюються для синтезу софороліпідів.

Ключові ферменти, які застосовуються під час біосинтезу софороліпідів

[54]

Фермент (скорочена назва)	Повна назва	Функції
<i>CYP52m1</i>	Цитохром P450 монооксигеназа	Гідроксилування жирних кислот
<i>UTGA1</i> і <i>UTGB1</i>	Глюкозил- трансфераза	Глікозильне сполучення
<i>SBLE</i>	Лактоназа	Лактонізація
<i>AT</i>	Ацетилтрансфераза	Ацетилювання

2.3. Особливості біосинтезу ліпопептидів

Загалом, ліпопептиди біосинтезуються в три стадії: генерація ліпідної частини, конструювання ліпопептидильного ланцюга та модифікація лінії після синтезу. Характерний жирний ацильний ланцюг зазвичай походить або від первинного метаболізму, або збирається спеціальною полікетидсинтазою (PKS), тоді як ліпопептидильний ланцюг збирається за допомогою дії нерибосомальних пептидних синтетаз (NRPS) або гібридних механізмів NRPS/PKS. Крім того, інші ферменти можуть брати участь у генеруванні субстратів-попередників для складання ліпопептидилу або модифікацій після завершення складання. Рисунок 2.4. демонструє загальну схему синтезу ліпопептидів [55].

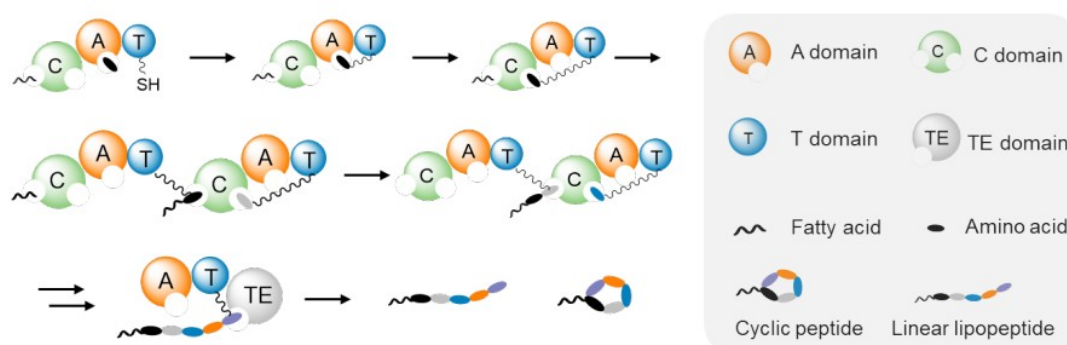


Рис.2.4. Загальна схема ліпопептидів [55]

Наявність фрагмента жирного ацилу (FA) є характерною відмінністю між ліпопептидами та іншими нерибосомальними пептидами та має значний вплив на їхні біологічні властивості. Група FA модулює полярність пептиду та захищає пептид від деградації. Походження ланцюгів FA в ліпопептидах відрізняється залежно від конкретного шляху біосинтезу. У більшості випадків FA походять від первинного метаболізму і синтезуються синтазами жирних кислот (FAS). Однак у деяких ліпопептидах FA утворюються специфічними полікетидсинтазами (PKS). Наприклад, поліненасичені жирні кислоти в міксохромідах, ліпопептидах, що виробляються міксобактеріями, синтезуються ітераційним PKS типу I. У цинамоїлвмісних ліпопептидах скілламіцину фрагменти коричної кислоти генеруються PKS типу II. FA також може зазнавати додаткових модифікацій, включаючи β -гідроксилювання, амінування, епоксидування та дегідрування (наприклад, утворення ацил-КоА-дегідрогенази *LipB* незвичайного подвійного зв'язку *Δcis3* у ланцюзі FA фріуліміцину) [55].

Механізми активації FA також можуть залежати від конкретного шляху біосинтезу ліпопептидів. У біосинтезі деяких ліпопептидів, таких як даптоміцин, FA активуються незалежною жирною ацил-АМФ-лігазою (*FAAL*). У біосинтезі ліпопептидів, таких як сурфактин і кальцій-залежні антибіотики (*CDA*), FA натомість активуються жирними ацил-КоА-лігазами (*FACL*) і ковалентно приєднуються до коферменту А [55].

Біосинтез ліпопептидів включає багатоетапні процеси, опосередковані різними ферментами нерибосомної пептидсинтетази (NRPS), які каталізують конденсацію та відбір амінокислотних залишків з утворенням різних метаболітів (включаючи ліпопептиди). Механізми, залучені в біосинтез серраветтину W1, серраветтину W2 і стефеніолідів, були ідентифіковані, тоді як механізми, залучені в біосинтез серраветтину W3 і гліколіпідів, що виробляються видами *Serratia*, повністю не з'ясовані [56].

На рис.2.5. показано узагальнену схемі синтезу ліпопептидів.

Було визначено систематичне функціонування NRPS ддля синтезу ліпопептидів, які беруть участь у біосинтезі вторинних метаболітів, і це вказує на те, що молекули-попередники (наприклад, амінокислоти) пов'язані з фосфопантетеїнільним фрагментом. PPTаза (фосфопантетеїнілтрансферазу) є активатором білка-переносника пептиду (PCP) (також відомого як домен тіюлювання в сімействі NRPS), і було показано, що він має важливе значення для біосинтезу серраветтину W1. Передбачається, що PPTаза бере участь у реакції включення L-серину як молекулярного компонента серраветтину W1. Таким чином, для точного функціонування серраветтин-синтетази W1 домен тіюлювання повинен бути активований шляхом отримання фосфопантетеїнільного фрагмента під дією PPTази. Після активації PPTази домен аденілювання здатний аденілювати L-серин до активованої форми. Цей активований L-серин потім буде зв'язуватися у вигляді тіоефіру з доменом тіюлювання (який уже був фосфопантетеїнільований PPTазою). Аміногрупа L-серину, пов'язана з доменом тіюлювання, реагує та створює амідний зв'язок із 3-D-гідроксидеканоїльним фрагментом шляхом від'єднання від ацильного білка-носія (ACP). Ця реакція призводить до утворення серратамінової кислоти, пов'язаної з доменом тіюлювання. Серратамова кислота переноситься до домену тіоестерази, після чого відбувається біосинтез другої серратамінової кислоти, зв'язаної з вільним доменом тіюлювання. Дві сусідні серратамінові кислоти утворюють внутрішньомолекулярний зв'язок, який призводить до вивільнення симетричного і кільцевого продукту, серраветтину W1 [56].

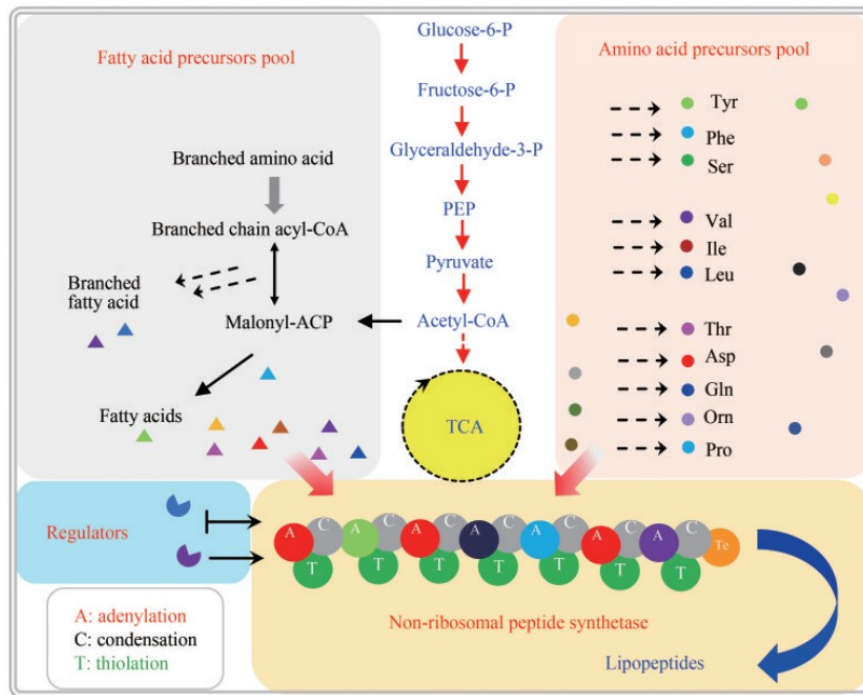


Рис.2.5. Узагальнена схема біосинтезу ліпопептидів [57]

Шлях біосинтезу серраветтину W2 має подібний механізм. Біосинтетичний шлях визначали на основі наявності генів, що кодують PKS і NRPS. Молекула-попередник, жирна кислота C10 (FA), синтезується кластером генів PKS *SwrEFG* і додатковими невизначеними білками та вивільняється у вигляді жирного ацил-КоА (Su et al. 2016). Кластер генів NRPS кодує основний W2-пептидний ланцюг (5-амінокислотний пептидний фрагмент) [56].

Подібно до серраветтину W1 і серраветтину W2, біосинтез стефеніолідів було досліджено. Ідентифіковано кластер генів NRPS, кодований геном *sphA*, який імовірно бере участь у біосинтезі стефеніолідів. Стефеніоліди містять D- і L-амінокислоти, і ці ліпопептиди циклізуються через макролактонне кільце [56].

Хоча і серраветтин W2, і стефеніолід є циклічними пентапептидами та біосинтезуються подібним чином, вони циклізуються іншим способом. Серраветтин W2 циклізується через 3-гідроксильну групу жирної кислоти, тоді як стефеніоліди циклізуються через гідроксильну групу треоніну. Таким

чином, серраветтин W1, серраветтин W2 і стефеніоліди синтезуються різними ферментами NRPS [56].

Молекулярна характеристика та регуляція біосинтезу сурфактину відбуваються через механізм нерибосомної пептидсинтетази. Етап включає мультиферментний пептидсинтазний комплекс, який містить чотири ферментативні субодиниці *SrfA*, *SrfB*, *SrfC* і *SrfD*. *SrfA* здійснює активацію та додавання амінокислот, а саме глутамат та 2 лейцини. У той же час *srfB* кодує синтетази, які каталізують проліферацію та активацію валіну, аспартату і лейцину. Згодом тіоестераза типу 1, необхідний для термінації пептиду та лейцину, активується *SrfC*. *SrfD* розташований на терміналі та кодує тіоестеразу типу II, необхідну для процесу лактонізації. Оперон *SrfA* складається з гена *sfp*, який кодує фосфопантетеїнілтрансферазу, необхідну для активації сурфактинсинтетази [58].

NRPS відповідає за синтез ліхенізину. У опероні ліхенізінсинтетази, який подібний до сурфактину та інших пептидсинтетаз, описано семи амінокислотних доменів активації – тіюлювання, двох епімеризаційних та одного тіоестеразного домену. Існує розпізнавання, активація та включення відповідних амінокислот, а саме глутаміну, лейцинів, валіну, аспартату, ізолейцину різними функціональними модулями такі як *LchAA*, *LchAB* і *LchAC*. Під час синтезу ліхенізину початковою одиницею є *LchAA*, а модулі в *LchAB* і *LchAC* ініціюють подовження пептидного ланцюга. Крім того, кінцевий кінець *LchAC*, зокрема передбачувана тіоестераза, відповідає за циклізацію та вивільнення пептидного продукту [58].

Чотири відкриті рамки зчитування для синтезу ітурину, *ituD*, *ituA*, *ituB* і *ituC*, становлять значний компонент оперона ітурінсинтетази. Специфічний дефіцит продукції ітурину А був підтверджений через порушення передбачуваної трансацилази малонілкоферменту А, кодованої геном *ituD*. Однак гени *ituC* і *ituB* кодують пептидсинтетазу, яка має один домен епімеризації, домен тіоестерази, який допомагає циклізації пептидів, і два домени аденілювання [58].

Малоніл-КоА є важливим центральним метаболітом, який служить одиницею подовження для біосинтезу полікетидів і ацильного ланцюга ліпопептидів. Зазвичай доступність внутрішньоклітинного малоніл-КоА вважається важливим вузьким місцем, що обмежує утворення цільового продукту. Було прийнято кілька стратегій для посилення виробництва полікетидів шляхом покращення постачання малоніл-КоА, таких як посилення активності ацетил-КоА та інгібування синтезу жирних кислот або побічних продуктів полікетидів [59].

Синтез ліпопептиду A40926 було покращено за допомогою більш високого рівня малоніл-АРС через надмірну експресію Ацетил-КоА синтетази і *FabD*. Жирні кислоти відіграють важливу роль у підтримці росту та виробництві вторинних метаболітів, що ускладнює точний контроль метаболічного потоку малоніл-КоА [59].

Синтез ліпідів, які використовуються для подальшого утворення ліпопептидів, включає два різних шляхи: з гідрофільних субстратів (синтез *de novo*) під час стаціонарної фази та з гідрофобних субстратів (синтез *ex novo*) під час росту клітин. У присутності змішаного субстрату виробництво біосурфактанту відбувається протягом усієї фази росту, що призводить до більшого споживання джерел вуглецю. Для синтезу ліпопептидів можна використовувати різні олії (в тому числі і відпрацьовані), а також цукри, як окремо так і разом. Олії часто виступають попередниками ліпопептидів [60].

Ферментація змішаного субстрату (цукру з відпрацьованою олією) призводить до зменшення лаг-фази після інокуляції з вищим ростом клітин через вплив глюкози (як цукру) та раннього виробництва ліпопептиду через вплив олії в середовищі. Виробництво біосурфактанту було вищим при ферментації змішаного субстрату порівняно з окремими вуглецевими субстратами, що могло бути наслідком посиленого росту мікробних клітин та/або збільшення метаболічного потоку молекул-попередників, необхідних для утворення ліпопептидів [60].

Шлях виробництва ліпопептиду з глюкози та олії для смаження показав, що спочатку молекули пулу попередників жирних кислот і амінокислот утворюються різними шляхами, а потім ці попередники збираються, щоб утворити молекулу ліпопептиду. Коли обидва субстрати знаходяться в середовищі, утилізація відбувається послідовно один за одним, тобто одночасно використовується тільки один субстрат (діауктичний ріст) [60].

РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ПРОДУКТУ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ

3.1. Потреба у цільовому продукті (нинішня та враховуючи перспективи).

Софороліпіди є гліколіпідними поверхнево-активними речовинами, що виробляються певними видами дріжджів з відновлюваних ресурсів. Як правило, софороліпіди, отримані з диких штамів, складаються з суміші лактонових і кислих різновидів софороліпідів. Завдяки своїм властивостям дані речовини знайшли велику кількість практичних застосувань, так, дані речовини можуть використовуватись у мийних засобах, сільському господарстві, фармацевтичній промисловості, косметології та в харчовій промисловості. Розглянемо більш детально дані варіанти використання.

В сільському господарстві через свої чудові протигрибкові властивості по відношенню до деяких рослинно-патогенних грибів, низьку токсичність та здатність до біологічного розкладання, дані речовини є чудовими безпечними для довкілля біоцидами [61]. Також софороліпіди в поєднанні з контактними гербіцидами утворюють емульсії, що дозволяє їх використовувати в якості ад'юванта в післясходових гербіцидах, дана комбінація забезпечить краще прилипання засобу до поверхні рослини та покращить проникнення в кутикулу рослини [62].

Використання в якості компонента для мийних засобів пов'язане з наявними у софороліпідів: протимікробними, антиадгезивними та антибіоплівковими властивостями. В статті [63] демонструється, що софороліпіди придатні для використання в засобах для очищення твердих поверхонь та ополіскувачах для автоматичного миття посуду, через низький показник піноутворення, безпечність для довкілля та властивості поверхневої

					НУХТ БТЕК КР 02.01.03. ПЗ		
Змн	Арк.	№	Підпис	Дат			
Розроб.	Паєлієнко				Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.	Пирог Т.П.					49	18
					52		
Н. Контр.					Кафедра БТМ		
Затверд.	Стабніков						
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО- ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ							

активності.

На сьогодні наявні дослідження, які демонструють, що софороліпіди можна використовувати у фармацевтичній промисловості. Вони можуть застосовуватись як протимікробні препарати, препарати для лікування кандидозу та астми, противірусні та сперміцидні засоби (проти ВІЛ та простого герпесу), протиракові засоби (підшлункова залоза, печінка, стравохід, молочні залози та шийка матки) та як компонент для доставки ліків [64-66].

В харчовій промисловості софороліпіди можуть застосовуватись для підвищення терміну зберігання фруктів (бактерицидні або антимікробні властивості), для покращення фізичних властивостей харчових продуктів, об'єму, текстури, в'язкості та стабільності, для підвищення біодоступності та розчинності у воді погано розчинних у воді сполук шляхом інкапсуляції [67-69].

В косметичній сфері софороліпіди використовуються як активний інгредієнт в засобах для тіла та шкіри. Вони демонструють низьку цитотоксичність щодо кератиноцитів і фібробластів людини, сприяють метаболізму фібробластів і неосинтезу колагену в дермі шкіри, діючи як агент, який реструктурує відновлення і тонізує шкіру, стимулюють синтез лептину через адипоцити, що може зменшити перевантаження підшкірного жиру, що визначає його роль у лікуванні целюліту, інгібують активність еластази, підвищення активності якої відповідає за старіння шкіри [70-72]. Через наявні бактерицидні та бактеріостатичні властивості з врахуванням раніше зазначених властивостей можуть застосовуватись для боротьби з лупою, при лікуванні акне та як активний інгредієнт у дезодорантах для маскуванню запаху [73].

Підсумовуючи вище наведену інформацію, можна дійти висновку, що софороліпіди мають широкий спектр використання та в більшості випадків є безпечними для довкілля аналогами нині існуючих засобів, але серед розглянутих сфер на сьогодні не всюди їх доцільно застосовувати. В

фармацевтичній промисловості наявні дослідження демонструють гарні результати, але, враховуючи жорсткі вимоги до даної сфери, в практичному плані вони не застосовуються через малу кількість досліджень, з часом, при збільшенні кількості досліджень та підтвердженні хороших результатів, ситуація може змінитись. В харчовій і сільськогосподарській промисловості та в якості компонента мийних засобів, через наявність великої кількості конкурентів та велику вартість отриманого продукту використання софороліпідів не є доцільним.

Оптимальним варіантом на сьогодні є використання в косметичній сфері, через наявність достатньої кількості досліджень та враховуючи, що висока вартість отриманих софороліпідів буде найменш відчутною саме в косметичній галузі.

Серед косметичної сфери розглянемо використання софороліпідів для лікування акне. Акне – це запальне захворювання волосяно-сальних відділів, що виникає внаслідок індукованого андрогенами підвищеного вироблення шкірного сала, зміни кератинізації, запалення та бактеріальної колонізації волосяних фолікулів на обличчі, шиї, грудях і спині *Propionibacterium acnes*.

Дана хвороба має різний ступінь тяжкості та на сьогодні точного механізму зараження не встановлено, але встановлено, що дана хвороба може з'являтися в результаті фолікулярної колонізації *Propionibacterium acnes* (*Cutibacterium acnes*) [74]. Враховуючи, що софороліпіди відзначаються протимікробними властивостями, вчені досліджували можливість використання софороліпідів для боротьби з *Propionibacterium acnes*. Так в 2002 році в статті [75] було досліджено софороліпіди, отримані при вирощуванні *Candida albicans* ATCC 22214, по відношенню до *Propionibacterium acnes*. В результаті було визначено, що мінімальна інгібуюча концентрація становить 0,5 мкг/мл. Та враховуючи, що на сьогодні є патенти та дослідження, які підтверджують хороші перспективи софороліпідів в боротьбі з *Propionibacterium acnes*, дане застосування є найоптимальнішим.

3.2. Обґрунтування вибору біологічного агенту для інженерної частини роботи.

Розглянувши антимікробні властивості поверхнево-активних речовин, отриманих різними біологічними агентами, а саме показники: мінімальної інгібуючої концентрації, інгібування росту, затримки росту та антибіоплівковий ефект, можна зробити висновок що для синтезу ПАР кращими продуцентами є представники видів *Pseudomonas aeruginosa* та *Starmarella bombicola*. Отже, розглянемо дані наведені в табл. 3.1, в яких представлено особливості одержання поверхнево-активних речовин представниками даних видів.

Особливості одержання мікробних ПАР з високою біологічною активністю

ПАР	Продуцент	Характеристика ПАР (хімічний склад)	Субстрат, концентрація	Концентрація синтезованих ПАР, г/л	Спосіб виділення з культуральної рідини	Літ-ра
Рамноліпіди	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> НАК02	Моно/(ди) рамноліпіди	Соняшникова олія – 40 г/л. Додаткове дробне внесення сон.олії для підтримання концентрації 40-60 г/л Кінцева концентрація соняшникової олії – 400 г/л.	240	Вилучення залишків олії з культуральної рідини н-гексаном із подальшим вилученням біомаси з водної фази центрифугуванням, осадження рамноліпідів шляхом зниження рН супернатанту до 2 і екстракцією ПАРів з осаду етилацетатом	76
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15692	Моно/(ди) рамноліпіди	Кукурудзяна олія – 120г/л. Додаткове дробне внесення 30 г/л починаючи з 5 дня ферментації кожні 3 дня. Кінцева концентрація кукурудзяної олії – 270 г/л.	150	Вилучення біомаси центрифугуванням, осадження рамноліпідів шляхом зниження рН супернатанту до 2 і екстракцією ПАРів хлороформ-метанол (2:1), і подальшим випарювання на роторному випарнику	77
Софороліпіди	<i>Starmerella bombicola</i> ATCC 22214	Суміш лактонових та кислих форм софороліпідв	Глюкоза – 100 г/л; Ріпакова олія – 100 г/л. Внесення підживлювального розчину глюкози (600 г/л) та ріпакової олії Кінцева концентрація глюкози – 300 г/л.	224.2	Екстракція н-гексаном (1:1) з подальшим випарюванням на роторному випарнику і зважуванням залишку	78
	<i>Starmerella bombicola</i> Δ ugtB1::URA 3 PT36	Неацетильовані та ацетильовані гліколіпіди	Глюкоза – 150 г/л. Підживлювальний розчин глюкози та олеїнової кислоти для підтримання концентрації 50 та 5 г/л, відповідно Кінцева концентрація глюкози – 350 г/л, олеїнової кислоти – 35 г/л	118	-	79
	<i>Starmerella bombicola</i> ATCC 22214	Суміш лактонових та кислих форм софороліпідв	Глюкоза – 100 г/л; Відпрацьована кулінарна олія – 100 г/л. Внесення підживлювального розчину глюкози (600 г/л) Кінцева концентрація глюкози – 267 г/л	315,6	Екстракція н-гексаном (1:1) з подальшим випарюванням на роторному випарнику і зважуванням залишку	80

Таблиця 3.2

Порівняльна характеристика продуцентів поверхнево-активних речовин

Продуцент	Склад поживного середовища, г/л	Концентрація синтезованих ПАР, г/л	Час культивування, год	Особливості процесу біосинтезу	Література
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> НАК02	Соняшникова олія(поч./кінц) – 40 / 400; NaNO ₃ – 7,84; KH ₂ PO ₄ – 2,1; MgSO ₄ ×7H ₂ O – 1,5.	240	260	Початкова швидкість аерації 1 л/(л*хв), з поступовим збільшенням під час культивування до 1,5 л/(л*хв), рівень розчиненого кисню – 40 %, початкова швидкість перемішування 500 об/хв, поступове збільшення до 1000 об/хв, 25 °С, рН 8,5, внесення дробно соняшникової олії для підтримання рівня 40-60 г/л	[76]
<i>Starmerella bombicola</i> ATCC 22214	Глюкоза(поч./кінц) – 100 / 300; Дріжджовий екстракт – 5; KH ₂ PO ₄ – 1; Пептон – 0,7; MgSO ₄ ×7H ₂ O – 0,5; CaCl ₂ ×2H ₂ O – 0,1; NaCl – 0,1; Ріпакова олія – 100.	224,2	144	Швидкість аерації 1 л/(л*хв), рівень розчиненого кисню – 30 %, 25 °С, рН 3,5, 400 об/хв Внесення підживлювального розчину глюкози (600 г/л), починаючи з 48 год кожен день.	[78]
<i>Starmerella bombicola</i> ATCC 22214	Глюкоза(поч./кінц) – 100/267; Дріжджовий екстракт – 5; KH ₂ PO ₄ – 1; Пептон – 0,7; MgSO ₄ ×7H ₂ O – 0,5; CaCl ₂ ×2H ₂ O – 0,1; NaCl – 0,1; Відпрацьована кулінарна олія – 100.	315,6	288	Швидкість аерації 1 л/(л*хв), рівень розчиненого кисню – 30 %, 25 °С, рН 3,5, 400 об/хв Внесення підживлювального розчину глюкози (500 г/л), починаючи з 48 год кожен день.	[80] 57

Серед наведених в табл. 3.1 представників найбільш цікавими технологіями синтезу ПАР є роботи [76, 78, 80], через найбільші концентрації, тому вибір біологічного агента для синтезу ПАР будемо проводити серед даних представників. В табл. 3.2 наведена більш детальна характеристика процесів отримання ПАР за допомогою мікроорганізмів.

Starmerella bombicola ATCC 22214 – при вирощуванні на ріпаковій олії має найменший час культивування, в порівнянні з іншими біологічними агентами (144 год), та в результаті найменший показник концентрації отриманих софороліпідів (224,2 г/л) [78].

Pseudomonas aeruginosa НАК02 – характеризується більшою концентрацією отриманих рамноліпідів (240 г/л), але час культивування приблизно в 1,8 рази більший (260 год) в порівнянні з *S. bombicola* ATCC 22214 вирощеного на ріпаковій олії [76].

Starmerella bombicola ATCC 22214 вирощена на відпрацьованій кулінарній олії здатна синтезувати софороліпідів в найбільших концентраціях в порівнянні з іншими розглянутими культурами (315,6 г/л), але недоліком є найбільший час культивування (288 год), що приблизно в 2 та 1,08 рази більше в порівнянні з *S. bombicola* ATCC 22214 вирощеного на ріпаковій олії та *P. aeruginosa* НАК02.

Так як для надсинтезу поверхнево-активних речовин використовуються різні поживні середовища, для обрання кращого біологічного агента слід визначити вартість 1 л поживного середовища та в подальшому умовну вартість 1 г цільового продукту.

**Вартість компонентів поживного середовища для вирощування
Pseudomonas aeruginosa НАК02, *Starmerella bombicola* ATCC 22214 (р.о.)
та *Starmerella bombicola* ATCC 22214 (в.к.о.)**

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1л середовища	Джерело інформації (1-11)*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> НАК02	Соняшникова олія – 400	50	20	1
	NaNO ₃ – 7,84	36	0,2822	2
	KH ₂ PO ₄ – 2,1	92	0,1932	3
	MgSO ₄ ×7H ₂ O – 1,5	28,75	0,0431	4
	Вартість 1 л середовища – 20,5185 грн			
<i>Starmerella bombicola</i> ATCC 22214 (р.о.)	Глюкоза – 300	57	17,1	5
	Дріжджовий екстракт – 5	1 100	5,5	6
	KH ₂ PO ₄ – 1	92	0,092	3
	Пептон – 0,7	988	0,6916	7
	MgSO ₄ ×7H ₂ O – 0,5	28,75	0,0144	4
	CaCl ₂ ×2H ₂ O – 0,1	40	0,004	8
	NaCl – 0,1	12	0,0012	9
	Ріпакова олія – 100	112	11,2	10
Вартість 1 л середовища – 34,6032 грн				
<i>Starmerella bombicola</i> ATCC 22214 (в.к.о.)	Глюкоза – 267	57	15,219	5
	Дріжджовий екстракт – 5	1 100	5,5	6
	KH ₂ PO ₄ – 1	92	0,092	3
	Пептон – 0,7	988	0,6916	7
	MgSO ₄ ×7H ₂ O – 0,5	28,75	0,0144	4
	CaCl ₂ ×2H ₂ O – 0,1	40	0,004	8
	NaCl – 0,1	12	0,0012	9
	Відпрацьована кулінарна олія – 100	15	1,5	11
Вартість 1 л середовища – 23,0222 грн				

Примітка: * - Ціни вказано станом на грудень 2022 р.

1. <https://www.olx.ua/d/uk/obyavlenie/olya-sonyashnikova-nerafnovana-IDQ9Td8.html>

2. <https://prom.ua/ua/p1716964380-nitrat-natriya.html>

3. <https://prom.ua/ua/p28011710-kalij-fosfornokislyj-zameschennyj.html?&primelead=MC43>

4. https://reaplust.com.ua/suha/magnj-srchanokislij?gclid=Cj0KCQjwuLShBhC_ARIsAFod4fJn0uuPsGNnin-pGl_9kGCzPZysMkHtetwtFC-8tFBi6bylhoI4YykaAhapEALw_wcB

5. <https://prom.ua/ua/p1704553080-glyukoza-harchova.html?&primelead=MC44>

6. https://prom.ua/p1086437845-ekstrakt-drozhzhej.html?utm_source=google_pla&utm_medium=cpc&utm_content=pla&utm_campaign=pla_medikamenty_meditinskie_tovary&utm_term=%7Bkeyword%7D&utm_source=google_pmax&utm_medium=cpc&utm_content=pmax&utm_campaign=Pmax_cpa_war_5_8&gclid=Cjw

KCAiA76-

dBhByEiwAA0_s9c_irxq7tr2KwEGfdYXq22ZE9YBrYzsAERWV46fHFyvQ3sAQ_9HiRBoCaSwQAvD_BwE

7. <https://shop.hlr.ua/pepton-fermentativnyy-pan-gis-12817.html>

8. <https://prom.ua/ua/p1541280195-kaltsij-hloristyj-hlorid.html?&primelead=MS40>

9. [https://soltis.ua/p1617279474-sol-pischevaya-](https://soltis.ua/p1617279474-sol-pischevaya-kamennaya.html?source=merchant_center&gclid=Cj0KCQjwuLShBhC_ARIsAFod4fJpmSV5a299mreYMBFpJVLamsSShu5jpPF_u0-bfY4PqCt3zanA8psaAvIEEALw_wcB)

[kamennaya.html?source=merchant_center&gclid=Cj0KCQjwuLShBhC_ARIsAFod4fJpmSV5a299mreYMBFpJVLamsSShu5jpPF_u0-bfY4PqCt3zanA8psaAvIEEALw_wcB](https://soltis.ua/p1617279474-sol-pischevaya-kamennaya.html?source=merchant_center&gclid=Cj0KCQjwuLShBhC_ARIsAFod4fJpmSV5a299mreYMBFpJVLamsSShu5jpPF_u0-bfY4PqCt3zanA8psaAvIEEALw_wcB)

10. <https://bigl.ua/ua/p1422818066-rapsova-oliya-pet>

11. <https://izi.ua/uk/p-7255609-maslo-otrabotannoe>

Згідно даних наведених в табл. 3.3 можна підсумувати, що найдорожчим буде вирощування *Starmerella bombicola* ATCC 22214 на ріпаковій олії через найбільшу вартість 1 л поживного середовища (34,60 грн/л), а найдешевшим буде вирощування *Pseudomonas aeruginosa* НАК02 через найменшу вартість 1 л поживного середовища (20,52 грн/л), так як розглянуті продуценти синтезують різну кількість ПАР, необхідно розглянути табл. 3.4 в якій представлено умовну вартість 1 г поверхнево-активних речовин.

Таблиця 3.4

Умовна вартість 1 г ПАР при вирощування *Pseudomonas aeruginosa* НАК02, *Starmerella bombicola* ATCC 22214 (р.о.) та *Starmerella bombicola* ATCC 22214 (в.к.о.)

Біологічний агент	Вартість 1 л середовища, грн	Концентрація ПАР, (г/л)	Умовна вартість 1 г ПАР, грн/г	Тривалість культивування, год	Кількість ПАР за годину, г/год
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> НАК02	20,5185	240	0,08549	260	0,923
<i>Starmerella bombicola</i> ATCC 22214 (р.о.)	34,6032	224,2	0,15434	144	1,557
<i>Starmerella bombicola</i> ATCC 22214 (в.к.о.)	23,0222	315,6	0,07294	288	1,096

Розглянувши табл. 3.4, можна одразу зробити висновок, що використання *Starmerella bombicola* ATCC 22214 при вирощуванні на ріпаковій олії є недоцільним варіантом, через найбільшу умовну вартість 1 г

ПАР (0,1543 грн/г). Серед *Pseudomonas aeruginosa* НАК02 та *Starmerella bombicola* ATCC 22214 (в.к.о.) на сьогодні вирощування *Starmerella bombicola* ATCC 22214 на відпрацьованій кухонній олії є найкращим варіантом через найбільші показники кількості синтезованого ПАР за годину (1,096 г/год), та найменшу умовну вартість 1 г цільового продукту (0,0729 грн/г).

Отже, розглянувши продуцентів поверхнево-активних речовин, які володіють кращими антимікробними властивостями, оптимальним варіантом для виробництва даних речовин буде використання *Starmerella bombicola* ATCC 22214 при вирощуванні на відходах кулінарної олії, через найбільший показник концентрації отриманих ПАР (315,6 г/л), найменшу умовну вартість 1 г продукту (0,0729 грн/г), незважаючи на найбільший час культивування (288 год).

3.3. Розрахунок річної потужності виробництва.

Обравши спосіб застосування, розрахуємо теоретичну річну потребу в софороліпідах. Згідно зі статистичними даними, захворювання на акне поширене у всіх вікових категоріях, починаючи з пубертатного періоду. Враховуючи великий віковий діапазон, звизимо його до діапазону від 25 до 60 років, згідно з даними статті [76], у віці від 25 років це захворювання зустрічається у 11 % осіб. Згідно з даними Державної служби статистики України, станом на 1 січня 2022 року кількість населення від 18 років до 60 становить 23 496,8 тис. осіб. Щоб дізнатись теоретичну кількість населення в потрібному нам діапазоні, проведемо перерахунок.

$$(23\ 496,8 \text{ тис. осіб} / (60-18)) \times (60 - 25) = 19\ 580,6 \text{ тис. осіб}$$

Також слід врахувати кількість жінок та чоловіків, так як чоловіки рідше використовують косметичні засоби в порівнянні з жінками. На перше січня 2022 року кількість жінок становила 21 990,7 тис. осіб, а чоловіків – 19 007,0, що у відсотковому співвідношенні становить 53,64 % жінок, та 46,36 % чоловіків, від загальної кількості населення. Для подальших розрахунків доцільно обрати жіночу аудиторію та половину чоловічої.

$$19\,580,6 \text{ тис. осіб} \times 53,64 \% + (19\,580,6 \text{ тис. осіб} \times 46,36 \%) / 2 = 15\,042 \text{ тис.}$$

Дізнавшись теоретичну кількість населення, розрахуємо, яка кількість з них може страждати на акне:

$$15\,042 \text{ тис. осіб} \times 11 \% = 1\,654,6 \text{ тис. осіб}$$

Точного курсу лікування не існує, так як у кожної людини все відбувається індивідуально, прийmemo, що в середньому необхідно буде використовувати крем впродовж трьох місяців (як зазначає один із виробників софороліпідів на 28 день використання засобу відбувається зменшення кількості пустул і папул [77]).

Також слід врахувати що точно дізнатись, з якою швидкістю буде використовуватись крем, також неможливо визначити, тому прийmemo, що в середньому в день буде використовуватись 1 мл крему. Тоді за теоретичний курс лікування буде спожито:

$$3 \text{ місяці} \times 30 \times 1 \text{ мл} = 90 \text{ мл крему}$$

Згідно з патентом [78], софороліпіди вносять у кількості приблизно від 0,1 % до 1 %, переважно приблизно 0,5 % за масою. Отже, в розрахованій кількості крему кількість софороліпідів буде становити:

$$90 \text{ мл крему} \times 0,5 \% = 0,45 \text{ г}$$

З розрахованих даних дізнаємось, яку кількість софороліпідів використають прийнята нами кількість осіб:

$$1\,654,6 \text{ тис. осіб} \times 0,45 \text{ г софороліпідів} = 744\,570 \text{ г} = 744,57 \text{ кг}$$

Врахуємо, що з розрахованої теоретичної потреби, через конкуренцію та інші фактори, ми зможемо задовольнити лише 25 %, тоді річна потреба буде становити:

$$744,57 \text{ кг} \times 25 \% = 186,15 \text{ кг софороліпідів}$$

Синтез софороліпідів буде відбуватись за допомогою *Starmerella bombicola* ATCC 22214, який синтезує 315,6 г/л софороліпідів за 288 год

культивування. Отже, необхідна кількість культуральної рідини буде становити:

$$186,15 \text{ кг} / 0,3156 \text{ кг/л} = 589,83 \text{ л}$$

Врахуємо втрати при виділенні софороліпідів з культуральної рідини та подальшому очищенні (25 %):

$$589,83 \text{ л} / (1 - 0,25) = 786,44 \text{ л}$$

Розрахуємо кількість культуральної рідини за один цикл виробництва, для цього спочатку приймемо кількість трудоднів 32, та дізнаємось яку кількість культуральної рідини отримуємо за добу:

$$786,44 \text{ л} / 32 = 24,6 \text{ л/добу}$$

З розрахованої кількості культуральної рідини за добу розрахуємо кількість культуральної рідини за цикл, але спочатку приймемо, що коефіцієнт нестерильних операцій буде становити 1,2 та час циклу приймемо 298 год (288 год час культивування + 10 год час підготовки ферментера):

$$1,2 \times 24,6 \times (288+10) / 24 = 366,54 \text{ л/цикл}$$

Визначимо об'єм ферментера, прийнявши, що коефіцієнт заповнення дорівнює 0,6:

$$366,54 / 0,6 = 611 \text{ л}$$

Найближчий за стандартними розмірами геометричний об'єм ферментера становить 630 л, отже обираємо його, тоді коефіцієнт заповнення дорівнює $366,54 / 630 = 0,58$, що задовольняє наші потреби.

3.4. Обґрунтування вибору товарної форми випуску цільового продукту мікробного синтезу (форма випуску продукту та вибір упаковки).

Розробка нового медичного препарату є складним і чітко регламентованим процесом, що позначається кількома критичними етапами. Серед цих етапів створення форми випуску препарату є частиною, яка є незамінною. Форма випуску продукту стосується конкретного формату, у якому він доступний пацієнтам, будь то таблетки, капсули, крем, чи інші форми. Хоча це може здатися питанням зручності чи переваги, вибір форми

випуску має далекосяжні наслідки для ефективності препарату, доступності для пацієнтів і загального успіху на ринку [79].

Вибір форми випуску медичного препарату є важливим етапом у його розробці з наступних причин:

1. Доступність для пацієнтів: різні пацієнти мають різні потреби та вподобання щодо того, як вони приймають ліки. Деякі можуть віддати перевагу таблеткам, іншим рідким формам, а треті можуть потребувати ін'єкційних форм. Розробляючи різноманітні форми випуску (наприклад, таблетки, капсули, сиропи, ін'єкції), компанія забезпечує доступність препарату для більшої кількості пацієнтів, збільшуючи його ринковий потенціал і гарантуючи, що більше пацієнтів можуть отримати користь від препарату [80].

2. Точність дозування: різні медичні умови та профілі пацієнтів можуть вимагати різних доз препарату. Створення кількох форм випуску дозволяє точні варіанти дозування. Наприклад, препарат може бути виготовлений у різних дозах або у формах пролонгованого вивільнення, щоб забезпечити тривалий терапевтичний ефект, гарантуючи, що пацієнти отримують відповідну кількість ліків для лікування їх конкретного стану [81].

3. Адаптація до характеристик захворювання: для деяких захворювань або станів можуть знадобитися спеціальні механізми доставки. Наприклад, препаратам, спрямованим на центральну нервову систему, може знадобитися подолати гематоенцефалічний бар'єр, що може вимагати певної форми випуску, наприклад інтратекальних ін'єкцій. Налаштовуючи форми випуску відповідно до фізіологічних і фармакокінетичних вимог захворювання, розробники ліків можуть підвищити ефективність препарату [79].

4. Клінічна ефективність і безпека: різні форми випуску можуть впливати на фармакокінетику та фармакодинаміку препарату. Це означає, що вибір форми випуску може впливати на те, як препарат всмоктується, розподіляється, метаболізується та виводиться в організмі. Оптимізація

форми випуску є важливою для забезпечення безпеки та ефективності препарату в реальних клінічних умовах [82].

Підсумовуючи, розробка різних форм випуску медичного препарату є вирішальним кроком, який покращує доступність для пацієнтів, точність дозування, легкість введення та загальні терапевтичні результати. Це дозволяє компаніям охоплювати ширшу групу пацієнтів, покращувати комплаєнс пацієнтів і адаптуватися до конкретних вимог захворювання. Цей комплексний підхід гарантує, що препарат може повністю розкрити свій терапевтичний потенціал, одночасно задовольняючи різноманітні потреби пацієнтів і постачальників медичних послуг [79].

3.4.1. Обґрунтування форми випуску препарату.

На даний час препарати, що застосовуються для лікування акне, випускаються у формі таблеток, порошку та мазі (крему) [83].

Переваги та недоліки наведених форм препаратів [84] представлені у табл. 3.3.

Таблиця 3.3

Переваги та недоліки лікарських форм

Лікарська форма	Переваги	Недоліки
Таблетки	<ul style="list-style-type: none"> ✓ зручність застосування; ✓ точність дозування; ✓ можливість сполучати несумісні за фізикохімічними властивостями і терапевтичній дії лікарські речовини; ✓ можливість маскування неприємного запаху, смаку, кольору й здатності до забарвлення ✓ можливість повної механізації й автоматизації виробництва; гігієнічність і масовість виробництва; ✓ висока компактність; ✓ стійкість до впливу несприятливих механічних і кліматичних факторів; ✓ зручність транспортування, зберігання й відпускання, тривалий строк придатності. 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Дія лікарських речовин може розвиватися відносно повільно. ○ Таблетки неможливо ввести хворому при блювоті, у непритомному стані. ○ При тривалому зберіганні деякі таблетки можуть цементуватися, що призводить до зміни часу розпадання. ○ До складу таблеток часто вводяться баластні речовини, що не мають терапевтичної цінності, які іноді викликають деякі побічні явища (наприклад, тальк подразнює слизові оболонки). ○ Не всі хворі, особливо діти, можуть вільно проковтувати таблетки

Порошки	<ul style="list-style-type: none"> ✓ простота приготування, точність дозування; ✓ універсальність складу (у формі порошків можна сполучити різні за складом і властивостями лікарські речовини); ✓ зручність зберігання і транспортування. 	<ul style="list-style-type: none"> ○ повільніша терапевтична дія порівняно з рідкими лікарськими формами; ○ незначний термін зберігання через велику питому поверхню (легко втрачають або поглинають воду, окиснюються тощо); ○ незручність прийому пахучих речовин, забарвлених, і тих, що мають неприємний смак; ○ подразнююча дія на слизову оболонку шлунково-кишкового тракту.
Мазі (креми)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ відносна простота та безпечність застосування; ✓ можливість використання як місцевої, так і резорбтивної дії; ✓ слабо виражений системний вплив; ✓ забезпечення високої концентрації діючих речовин у місці нанесення; ✓ можливість пролонгованої дії; ✓ до складу однієї мазі (крему) можуть входити різні діючі компоненти. 	<ul style="list-style-type: none"> ○ мазі (креми) на основі вазеліну слабо вивільняють діючі речовини; ○ потрапляючи на шкіру та одяг, залишають жирні плями; ○ мазі (креми) на гідрофобній основі мають виражений парниковий ефект.

Отже, після аналізу переваг та недоліків, можна прийти до висновку, що найбільш оптимальною формою для виробництва препарату для лікування акне є крем. Це пояснюється тим, що крем має можливість застосовуватися як місцево, так і резорбтивно, що відрізняє його від інших форм. Крім того, ця форма характеризується слабким системним впливом, на відміну від таблеток. Також важливо враховувати, що через зовнішнє застосування крему, його ефективність не залежить від прийому їжі та індивідуальних біохімічних особливостей конкретної людини, що відрізняє його від інших лікарських форм.

3.4.1.1. Складники крему, який використовується для лікування акне.

Крем для лікування акне, який розробляється в даній роботі, як основний (діючий) компонент міститиме софороліпіді. Окрім даного компонента до його складу входитимуть [85]:

- ✓ **Софороліпіди.** Софороліпіди — це біоповірнево-активні речовини, що складаються з дисахариду глюкози (софорози), пов'язаного з довгим ланцюгом жирної кислоти, що виробляється непатогенними дріжджами, такими як *Starmerella bombicola*. Софороліпіди мають хорошу сумісність зі шкірою, зволожуючі властивості та біологічну активність і можуть використовуватися для лікування акне, лупи та неприємного запаху тіла. Повідомляється також про антимікробну активність софороліпідів проти патогенних мікроорганізмів *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium* [86].
- ✓ **Сополімер акрилату натрію**, який відіграє різні ролі у складах засобів догляду за шкірою, включаючи функцію диспергатора, стабілізатора емульсії, замутнювача і підсилювача в'язкості для поліпшення текстури. Простіше кажучи це допомагає налаштувати естетику для отримання оптимального кінцевого продукту. Він часто використовується в засобах догляду за шкірою на основі гелю. З хімічної точки зору, цей синтетичний інгредієнт є сополімером мономерів акрилату натрію (будівельні блоки полімерів) [87].
- ✓ **Лецитин**, який полегшує подразнення, запобігає появі запалень і стимулює регенерацію клітин. Також цей компонент підвищує бар'єрні функції шкіри та стимулює процеси її живлення. У літній період [88].
- ✓ **Гліцерин.** Він здатний адсорбувати молекули води з повітря і пов'язувати їх у верхніх дермальних шарах шкіри, що забезпечує глибоке зволоження протягом до 24 годин. Гліцерин також зміцнює захисний бар'єр шкіри, полегшує процес відлущування мертвих клітин і має антибактеріальні та антисептичні властивості [89].

- ✓ **Феноксietанол** — органічна сполука, що часто застосовується в якості антибактеріального агента в засобах для догляду за шкірою та у сонцезахисних засобах. Феноксietанол - універсальний консервант широкого спектру дії. Він є одним із найзручніших у використанні консервантів через його здатність розчинятися у різних рідинах — воді, спирті, різних рослинних оліях. Феноксietанол є відносно безпечним косметичним інгредієнтом при використанні у допустимій концентрації [90].
- ✓ **Метилізотіазолінон** у косметиці, особливо у поєднанні з подібним консервантом метилхлорізотіазоліноном, проявляє активність щодо широкого спектру мікроорганізмів і тим самим значно продовжує термін придатності косметики. Це поєднання консервантів (запатентована формула Kathon CG) використовується в багатьох гігієнічних продуктах як альтернатива парабенам [91].
- ✓ **Ефірна олія пальмарози**. Пальмарозовое масло по праву вважається одним з кращих засобів, які доглядають за шкірою. Воно зволожує і живить її, сприяє швидкій регенерації клітин і нормалізує вироблення шкірного жиру, що особливо важливо для жирної шкіри. Завдяки антисептичним властивостям це чарівне маслечко змушує забути про прищі і вугрової висипки, які супроводжують проблемну шкіру [92].

3.4.2. Обґрунтування вибору первинної та вторинної упаковки.

Упаковка є важливою частиною фармацевтичної та загалом промисловості. Це допомагає захистити пацієнтів і споживачів від небезпеки препаратів та інших продуктів, які тим чи іншим чином використовуються пацієнтами. Це також допомагає зберегти продукти свіжими та безпечними для використання. Первинна упаковка є першим шаром захисту медичного препарату. Саме упаковка безпосередньо контактує з препаратом або іншим продуктом [93].

Для упаковки кремів найчастіше використовуються скляні банки та туби [94]. Порівняння даних типів упаковки наведено у табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Порівняння типів первинної упаковки для мазей [95, 96]

Тип первинної упаковки	Переваги	Недоліки
Скляні банки	<ul style="list-style-type: none"> ✓ хімічна інертність; ✓ непроникність лікарських речовин, водяної пари, газів; ✓ можливість герметизації, доступність. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ мала механічна міцність; ❖ незручність транспортування; ❖ трудомісткість підготовки.
Туби	<ul style="list-style-type: none"> ✓ мазі захищені від дії зовнішнього середовища; ✓ гігієнічність; ✓ туби легкі, портативні; ✓ практично повністю виключає можливість окиснення продукту, тому що дозволяє скоротити до мінімуму контакт продукту з повітрям; ✓ можливість дозувати продукт невеликими порціями. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Істотних недоліків не виявлено.

Отже, для первинної упаковки крему була обрана туба з наступних причин. Вона практично повністю усуває можливість окиснення продукту, відрізняючись від скляних банок в цьому аспекті. Крім того, туби відрізняються вищою міцністю в порівнянні зі скляними банками і, водночас, забезпечують захист крему від впливу зовнішнього середовища, включаючи вплив світла, кисню, забруднення бактеріями і т.д.

Вторинне пакування – це процес укладання або захисту медичного продукту у вторинний контейнер. Звичайні матеріали, що використовуються для вторинної упаковки, включають картон, фольгу та пластик [93].

Вторинна упаковка забезпечує додатковий рівень захисту для продуктів і може допомогти подовжити термін придатності продукту. Це також може допомогти захистити продукт від пошкодження під час транспортування та транспортування [93].

У деяких випадках вторинна упаковка також може використовуватися для забезпечення функцій, що захищають від втручання, або для відображення такої інформації, як дозування продукту та термін придатності [93].

Вторинна упаковка повинна бути [97]:

1. Надійною, щоб захистити препарат від пошкоджень.
2. Помітною і яскравою. Упаковка має кидатися в очі і виділятися серед численних конкурентів.
3. Інформативною.
4. Безпечною.

Отже, картонна пачка відповідає всім зазначеним вище вимогам. Вона забезпечує належний захист первинного пакування від зовнішніх факторів і дозволяє нанести всю необхідну інформацію, надаючи при цьому яскравий і помітний зовнішній вигляд.

РОЗДІЛ 4. ОБГРУНТУВАННЯ ЕТАПІВ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИСТКИ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ

За один ферментаційний цикл зливається 366,54 л культуральної рідини, подальшим етапом промислового виробництва є виділення та очищення цільового продукту з культуральної рідини. Враховуючи, що на сьогодні немає промислового методу виділення софороліпідів, для подальшого вибору необхідних стадій використовуватимемо наявні експериментальні статті [98, 99] та патенти [100, 101], з подальшим збільшенням до виробничих масштабів.

4.1. Видалення біомаси

Софороліпіди є екзометаболітами, тому в першу чергу необхідно видалити біологічну масу.

Під час огляду літератури можна побачити, що для видалення біомаси при виділенні використовують центрифугування [98, 99] та фільтрування [100, 101], дані методи є одними з найчастіше вживаних під час видалення біомаси. Для визначення оптимального варіанту розглянемо переваги та недоліки даних методів.

Перевагами фільтрування є можливість встановлення конструкцій фільтрів з розвиненою фільтрувальною поверхнею, можливість промивання та віджиму осаду, ефективність процесу менше залежить від концентрації біомаси в культуральній рідині, недоліками даного процесу є зменшення швидкості процесу внаслідок накопичення осаду на фільтрувальній перегородці.

Центрифугування є високопродуктивним процесом, який має широкі можливості для оптимізації, відсутня потреба в додатковому обладнанні, недоліками є складність конструкції; високі вимоги до точності виготовлення

					НУХТ БТЕК КР 02.01.03. ПЗ		
Змн	Арк.	№	Підпис	Дат			
Розроб.		Павлієнко			РОЗДІЛ 4. ОБГРУНТУВАННЯ ЕТАПІВ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИСТКИ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ		
Перевір.		Пирог Т.П.					
						68	6 /1
Н. Контр.					Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков					

конструкційних вузлів та високі втрати енергії.

Розглянувши переваги та недоліки даних методів, можна зробити висновок, що використання фільтрування для даного процесу є недоцільним, через забивання пор біомасою та наявність в культуральній рідині олії, що може зменшити ефективність процесу фільтрування. Отже, можна зробити висновок, що для видалення біомаси доцільно обрати центрифугування.

Вміст біомаси в культуральній рідині складає 8 г/л, що буде становити $366,54 \text{ л} \times 8 \text{ г/л} = 2,93 \text{ кг}$ сухої біомаси, враховуючи, що біомаса знаходиться в КР, необхідно врахувати вологу, яка становить приблизно 85 %. Кількість вологої біомаси буде становити $2,93 / 0,15 = 19,54 \text{ л}$. Тоді кількість надосадової рідини буде становити $366,54 \text{ л} - 19,54 \text{ л} = 347 \text{ л}$.

4.2. Виділення софороліпідів

Після видалення біомаси з отриманого супернатанту можна проводити виділення софороліпідів. В розглянутих літературних джерелах для виділення софороліпідів використовують декілька методів. Найчастіше зустрічається екстракція за допомогою етилацетату [98, 102], рідше за допомогою суміші етилацетату з ізопропанолом [99], а також зустрічається використання ультрафільтраційних установок з різним відсіканням молекулярної маси [100, 101].

До мінусів використання ультрафільтраційної установки можна віднести забиття пор мембран, а також можливе відділення лактонових софороліпідів від кислих, що небажано. Перевагами даного процесу є відсутня необхідність використання розчинників, пари яких можуть становити загрозу здоров'ю людини.

Екстракція за допомогою розчинників дозволить повністю виділити наявні софороліпіди без розділення на лактонові та кислі софороліпіди, під час використання даного методу відсутні супутні процеси, які можуть вплинути на час виділення (як, наприклад, забивання пор мембран фільтрувальної перегородки), а також, враховуючи використання розчинників, в подальшому їх з легкістю можна буде відновити та

використовувати повторно. До недоліків даного методу можна віднести негативний вплив парів розчинників на організм людини та потреба в великому об'ємі даних речовин.

Розглянувши переваги та недоліки даних методів, можна зробити висновок, що для видалення софороліпідів доцільно обрати екстракцію розчинниками, через наявні переваги, які повністю перекривають недоліки.

В більшості випадків для екстракції софороліпідів використовують етилацетат в співвідношенні розчинника до супернатанта як 1 до 1, що дозволяє повністю виділити софороліпід, також у наявній статті [99] продемонстровано, що для екстракції софороліпідів в якості розчинника можна використовувати суміш етилацетату з ізопропанолом (8 до 2).

Враховуючи можливість використання різних розчинників, оберемо суміш етилацетату та ізопропанолу, так як ізопропанол є дешевшим (96 грн/л [103]) в порівнянні з етилацетатом (111,6 грн/л [104]), а використання чистого етилацетату від суміші етилацетату з ізопропанолом не впливає на результат екстракції.

Підсумовуючи, процес екстракції софороліпідів буде виглядати наступним чином: спершу для екстракції необхідно приготувати суміш екстрагента, співвідношення якого до супернатанту становить 1 до 1, об'єм супернатанту після центрифугування становить 347 л, а також враховуючи втрати на попередній стадії, припустимо, що даний об'єм становить 345 л. Отже, необхідно приготувати 345 л розчинника, співвідношення етилацетату до ізопропанолу становить 8 до 2, тоді об'єм етилацетату становить 276 л а ізопропанолу – 69 л. Процес екстракції може відбуватись періодичним та безперервним способом, враховуючи, що отриманий об'єм розчину становить приблизно $345 + 345 \text{ л} = 690 \text{ л}$, доцільно використовувати екстрагування періодичної дії, яке можна провести в звичайному реакторі без закупавання додаткового дороговартісного обладнання. Приготована суміш розчинника подається разом з супернатантом в реактор об'ємом 1 м^3 , де відбувається перемішування та подальше відстоювання розчину.

В результаті екстракції утворюється суміш, поділена на фази, при цьому речовини з меншою густиною будуть перебувати зверху (густину супернатанту приймаємо наближеною до значення води – 997 кг/м^3 , етилацетату – 902 кг/м^3 , ізопропанолу – 786 кг/м^3). Так як софороліпіди екстрагують розчинниками, в подальшому використовують верхню фазу розчину, тобто спочатку нижню фазу зливають на знешкодження/утилізацію, а екстракт направляють на подальші стадії виділення, приблизний об'єм екстракту з софороліпідами на виході становитиме 340 л.

В подальшому, враховуючи великий об'єм отриманого розчину, слід провести його концентрування. Для концентрування доцільно обрати вакуум-випарну установку, що дозволить відновити розчинники для повторного використання та зменшити технологічне навантаження на подальші стадії.

Екстракт подають в вакуум-випарну установку, де відбувається концентрування в два рази, випарена суміш розчинників направляється на відновлення для подальшого повторного використання. Отриманий концентрат з врахуванням втрат ($330 \text{ л} - 50 \% = 165 \text{ л}$), направляють в реактор, де відбувається зберігання до використання в подальших стадіях.

Під час виробничого синтезу одним із компонентів поживного середовища було відпрацьована кулінарна олія, враховуючи що наявність даного компонента в подальшому етапі очищення може негативно вплинути на процес, слід видалити дану олію. В літературних джерелах [99, 102] наведено що для відокремлення олії можна використати екстракцію *n*-гексаном, а враховуючи що щільність гексану найнижча серед розглянутих речовин (660 кг/м^3) то даний розчин буде знаходитись в верхній частині суміші, а також оскільки температура кипіння гексану становить $70 \text{ }^\circ\text{C}$, можна зробити висновок, що в подальшому його можна буде відновити для повторного використання, що в майбутньому зменшить економічні витрати.

Процес видалення олії буде виглядати наступним чином, в реактор до концентрату додають таку саму кількість *n*-гексану, розчин перемішують та залишають на відстоювання для поділу фаз, нижню фазу зливають в збірник

для подальшого очищення софороліпідів, а н-гексан направляють на вакуум-випарну установку, яка використовувалась раніше, для відновлення гексану.

4.3. Очищення софороліпідів

В результаті екстракції та концентрування отримують розчин софороліпідів, який матиме чистоту приблизно 80 %, яка задовільна для галузей промисловості, не пов'язаних з фармацевтичним сектором, враховуючи, що софороліпіди передбачаються до використання в косметології, даний показник чистоти не задовольняє необхідні норми. Тому необхідне подальше очищення софороліпідів. Враховуючи, що в концентраті на даній стадії знаходяться софороліпіди та високомолекулярні домішки, для очищення доцільно використати адсорбційні смоли, як продемонстровано в статті [105]. В даній статті було проведено порівняння смол для визначення оптимального варіанту, найкращим виявилась адсорбційна смола Amberlite XAD 1600 N яка спроможна адсорбувати 100 % софороліпідів з розчину, а також проявляє гарні показники десорбції. Для елюювання софороліпідів з смоли доцільно використовувати ацетон, як продемонстровано в статті, даний елюент проявляє кращі десорбуючі властивості по відношенню до софороліпідів в порівнянні з іншими елюентами (метанол, етанол).

В статті [105] не наведено оптимальні показники швидкості адсорбції та десорбції продукту, тому для подальших розрахунків будемо використовувати технічні характеристики даної смоли [106]. В технічній характеристиці вказано, що оптимальною швидкістю адсорбування та елюювання є 1-4 л розчину на 1 л смоли за 1 год. Згідно з даними експериментальної статті [105], адсорбція відбувається краще, ніж десорбція, доцільно обрати для адсорбції меншу кількість рідини за 1 год, тобто меншу швидкість, а для десорбції більшу кількість рідини за 1 год. Для подальших розрахунків приймемо, що адсорбування буде відбуватись з швидкістю 1 л розчину на 1 л смоли за 1 год, а елюювання з швидкістю 2 л розчину на 1 л смоли за 1 год.

Отже, процес очищення софороліпідів буде виглядати наступним чином: в адсорбційну колонку завантажують смолу та в подальшому подають концентрат зі швидкістю 1 л на 1 л смоли за 1 год, після адсорбування в колону подають воду очищену для змивання неадсорбованих залишків, а потім проводять елюювання софороліпідів ацетоном зі швидкістю 2 л ацетону на 1 л смоли за 1 год.

Отриманий елюат спрямовують на вакуум-випарну установку для концентрування розчину та відновлення ацетону (кипіння ацетону відбувається приблизно при 56 °С). Отриманий концентрат після випарювання направляють на етап сушіння.

4.4. Сушіння софороліпідів

Процес висушування розчинів можна проводити за допомогою вакуум-сушильної шафи, сублимаційної сушарки або розпилювальної сушарки.

Сублимаційний метод сушіння займає найбільшу кількість часу, в порівнянні з іншими методами, використання вакуум-сушильної установки призведе до необхідності подальшого подрібнення та просіювання висушеного продукту, а розпилювальна сушарка дозволить висушити продукт швидко і без необхідності подрібнення. Враховуючи, що на сьогодні наявні розпилювальні сушарки з подачею теплоносія невисокої температури, даний метод є оптимальним.

Отже, процес отримання порошкоподібних софороліпідів буде виглядати наступним чином: концентрат після випарювання подають на розпилювальну сушарку, в якій відбувається отримання порошкоподібних софороліпідів, і в подальшому вони завантажуються на пересувну ємність, за допомогою якої поступають на наступну стадію.

**РОЗДІЛ 5. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З
ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ (ДЛЯ
ЕТАПІВ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ)**

Вихідні дані

1. Об'єм культуральної рідини з однієї ферментації - $V_{кр} = 366,54$ л;
2. Концентрація біомаси у КР = 8 г/л;
3. Концентрація цільового продукту у КР = 315,6 г/л;
4. Втрати на стадіях виділення та очищення софороліпідів складають 25 %
($366,54 \text{ л} \times 315,6 \text{ г/л} = 115,68 \text{ кг} - 25 \% = 86,76 \text{ кг}$)

					НУХТ БТЕК КР 02.01.03. ПЗ			
Змн	Арк.	№	Підпис	Дат				
Розроб.	Павлієнко				РОЗДІЛ 5. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ (ДЛЯ ЕТАПІВ	Літ.	Арк.	Акрушіє
Перевір.	Пирог Т.П.						74	4
Н. Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.	Стабніков							

Таблиця 5.1

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 рідини, л	Вийшло	
1	2	3	4	5	6	7
ТП 4 Зберігання культуральної рідини						
1	ТП 4.1. Зберігання культуральної рідини	КР	366,54 л			Реактор-змішувач об'ємом 400 л
ТП 5 Видалення біомаси						
2	ТП 5.1. Центрифугування	КР	366,54 л			Центрифуга продуктивність 2 м ³ /год
		Біомаса	19,54 кг (366,54 × 8 / 0,15 (вологість 85 %))			
		Супернатант	347 л (366,54 - 19,54)	2 л (0,6 %)	345 л (347 - 2)	
ТП 6 Виділення софороліпідів						
3	ТП 6.1. Екстракція софороліпідів	Супернатант	345 л			Реактор-змішувач об'ємом 1 м ³
		Етилацетат	276 л			
		Ізопропанол	69 л			
		Екстракт (верхня фаза)	340 л (690 – 350)	10 (3 %)	330 л (340 – 10)	
		Водний розчин (нижня фаза)	350 л			

Продовження табл. 5.1

1	2	3	4	5	6	7
4	ТП 6.2. Концентрування екстракту	Екстракт	330 л			Вакуум-випарна установка, з внутрішнім діаметром 1 м ³ , продуктивність по випареній волозі 195 кг/год
		Випарений етилацетат та ізопропанол			165 л (330 × 50%)	
		Концентрат			165 л (330 л – 165 л)	
5	ТП 6.3. Видалення олії	Концентрат	165 л			Реактор-змішувач об'ємом 400 л
		n-гексан	165 л			
		n-гексан з олією (Верхня фаза)	168 л			
		Розчин софороліпідів (Нижня фаза)	162 л (330 л – 168 л)	2 л (1,2 %)	160 л (162 л – 2 л)	
ТП 7 Очищення софороліпідів						
6	ТП 7.1. Адсорбційне очищення софороліпідів	Розчин софороліпідів	160 л	-		Реактор об'ємом 400 л
		Amberlite XAD 1600 N (1 л розчину до 1 л смоли за 1 год)	40 л (160 л / 1 / 4 год)	-		Адсорбційна колона об'ємом 44 л
		Вода очищена (для промивання смоли 2 л на 1 л смоли)	80 л (40 × 2)	-		
		Ацетон (розчин для елювання софороліпідів 2 л на 1 л смоли за 1 год)	320 л (40 × 2 × 4 год)			
		Елюат	320 л	10 л (3 %)	310 л (320 – 10)	Збірник об'ємом 400 л

Закінчення табл. 5.1

1	2	3	4	5	6	7
ТП 7 Очищення софороліпідів						
7	ТП 7.2. Концентрування елюату	Елюат	310 л			Вакуум-випарна установка, з внутрішнім діаметром 1 м ³ , продуктивність по випареній волозі 195 кг/год
		Випарений ацетон			186 л (310 × 60%)	
		Концентрат	124 л (310 л – 186 л)	4 (3,2 %)	120 (124 – 4)	
ТП 8 Сушіння						
8	ТП 8.1. Сушіння концентрату	Концентрат	120 л	-	-	Розпилювальна сушарка з продуктивністю по випареній волозі 200 кг/год
		Порошкоподібні софороліпіди (вміст вологи 10 %)	90,56 кг (81,5 / 0,9)	3,62 (4 %)	86,94 (90,56 – 3,62)	
ПМВ 9 Пакування та маркування						
9	ПМВ 9.1. Пакування та маркування порошкоподібних софороліпідів	Порошкоподібні софороліпіди	86,94 кг			Переносна ємність об'ємом 200 л
		Упакований в поліетиленовий пакет (по 100 г) цільовий продукт		0,18 (0,2 %)	86,76 кг (86,94 – 0,18)	Фасувально-пакувальна машина продуктивність 18 уп/хв

РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікацію обладнання, наведеного на апаратурній схемі виділення та очищення софороліпідів, представлено в табл. 6.1.

Таблиця 6.1

Специфікація обладнання для апаратурної схеми виділення та очищення софороліпідів

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
ПЗ-1	Повітрязабірник	1	Обладнаний металевією сіткою, яка забезпечує вилучення забруднюючих частинок
Ф-2	Фільтр грубого очищення	1	Фільтр сітчастий, фільтроматеріал – гофровані ткані сітки з високолегованих сталей, корпус – із високолегованої сталі. Продуктивність – 1100 м ³ /год, стартовий опір – 50 Па. Розміри: 495*247*48 (мм). Клас очищення: G2/G3 (Е = 90 %) [https://www.technofilter.com.ua/types/mesh/]
К-3	Калорифер	1	Паровий калорифер з нержавіючої сталі, виконаний на замовлення у фірми ОПЕКС (Україна), продуктивність за повітрям – 400 л/хв [https://opeks.ua/ua/parovi-kaloriferi-nagrivachi]
ПСЕ-4	Промислова система електродеіонізації	1	Промислова система електродеіонізації EDI16, продуктивність 15 м ³ /год, габарити 2500*15000*1950 мм [https://akvo.com.ua/ua/2470-ecosoft-edi-16-promyishlennaya-sistema-elektrodeionizatsii]
З-5	Збірник для зберігання води питної / води очищеної	1	Збірник сталевий емальований з номінальним об'ємом 10 м ³ , довжина – 2600 мм, ширина – 2600 мм, висота – 4020 мм [http://euromash.kiev.ua/ua/sborniki_emal_ua.php].
Р-6	Реактор-змішувач для зберігання культуральної рідини	1	Реактор СЕонв 0,4 – об'ємом 400 л, сталевий емальований з сорочкою, [http://euromash.kiev.ua/ua/aparati_emal_mehanicheskim_perem_ustroystvom_ua.php]

НУХТ БТЕК КР 02.01.03. ПЗ				
Змн	Арк.	№	Підпис	Дат
Розроб.	Паєлієнко			
Перевір.	Пирог Т.П.			
Н. Контр.				
Затверд.	Стабніков			
РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ				
		Літ.	Арк.	Акрушіє
		78	78	73
Кафедра БТМ				

1	2	3	4
Н-7 Н-9 Н-11 Н-17 Н-25 Н-27	Насос відцентровий	6	Насос відцентровий, продуктивність 800 л/год [https://hot-rod.com.ua/nasos-24v-22wt-800l-g]
Ц-8	Центрифуга	1	Центрифуга ОГШ-202К-05 з продуктивністю 2 м ³ /год [https://www.oborud.info/product/jump.php?22639&c=1453]
З-10	Збірник для зберігання суміші етилацетату з ізопропанолом	1	Збірник СЕнв 0,40 – об'ємом 400 л, сталевий емальований, довжина – 1180 мм, ширина – 1280 мм, висота – 1640 мм, (ТОВ «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.») [http://euromash.kiev.ua/ua/sborniki_emal_ua.php]
Р-12	Реактор	1	Реактор СЕонв 1,0 – об'ємом 1 м ³ , сталевий емальований, довжина – 1410 мм, ширина – 1410 мм, висота – 3500 мм, (ТОВ «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.») [http://euromash.kiev.ua/ua/aparati_emal_mehanicneskim_perem_ustroystvom_ua.php]
Н-13	Насос відцентровий	1	Насос відцентровий Ensycos `Eco` 40, продуктивність 2,4 м ³ /год [https://in-ua.com/products/tsentrobezchnyj-nasos-ensycos-eco-40-chugun-390-vt-maks-napor-40m-maks-podacha-2400-l-ch]
ВПУ-14	Вакуум-випарна установка	1	Вакуум-випарний апарат QN-1000, внутрішній об'єм 1 м ³ , продуктивність 195 кг/год, довжина – 2335 мм; ширина – 1520 мм, висота – 2765, [https://chinalongqiang.en.made-in-china.com/product/FSVmiUoDbRWp/China-Small-Round-Vacuum-Concentration-Tank-for-Viscous-Product.html]
Н-15 Н-23	Насос перистальтичний	2	Перистальтичний насос PDP TEC100 100-00 90-260V SANTOPRENE, продуктивність 100 л/год [https://prom-nasos.com.ua/ua/catalog/pumps-by-type/peristaltic_pumps/peristaltichniy-nasos-pdp-tec100-100-00-90-260v-santoprene/]
Р-16	Реактор для концентрату	1	Реактор СЕонв 0,4 – об'ємом 400 л, сталевий емальований з сорочкою, довжина – 1380 мм, ширина – 1380 мм, висота – 2550 мм, (ТОВ «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.») [http://euromash.kiev.ua/ua/aparati_emal_mehanicneskim_perem_ustroystvom_ua.php]

1	2	3	4
З-18	Збірник для зберігання розчину софороліпідів	1	Збірник СЕНв 0,25 – об'ємом 250 л, сталевий емальований, довжина – 1150 мм, ширина – 1000 мм, висота – 1800 мм, (ТОВ «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.») [http://euromash.kiev.ua/ua/sborniki_emal_ua.php]
Н-19 Н-21	Відцентровий насос	2	Насос відцентровий 6-12В 9.0 М, продуктивність 400 л/год [https://forevery.com.ua/good/1307236-vodyaniy-nasos-6-12v-9-0-m-400l-god-vidcentroviy-elektrichniy-universalniy]
З-20	Збірник для зберігання ацетону	1	Збірник СЕНв 0,40 – об'ємом 400 л, сталевий емальований, довжина – 1180 мм, ширина – 1280 мм, висота – 1640 мм, (ТОВ «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.») [http://euromash.kiev.ua/ua/sborniki_emal_ua.php]
АК-22	Адсорбційна колона	1	Адсорбційна колона BPG 300/750 Column, максимальний об'єм заповнення 44 л, висота – 1580 мм, діаметр – 690 мм [https://www.cytivalifesciences.com/en/us/shop/chromatography/columns/process-columns/bpg-chromatography-columns-p-05573#order , https://www.manualslib.com/manual/2211592/Cytiva-Bpg-Columns.html?page=130]
З-24	Збірник для зберігання елюату	1	Збірник СЕНв 0,40 – об'ємом 400 л, сталевий емальований, довжина – 1180 мм, ширина – 1280 мм, висота – 1640 мм, (ТОВ «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.») [http://euromash.kiev.ua/ua/sborniki_emal_ua.php]
З-26	Збірник для зберігання концентрату	1	Збірник СЕНв 0,25 – об'ємом 250 л, сталевий емальований, довжина – 1150 мм, ширина – 1000 мм, висота – 1800 мм, (ТОВ «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.») [http://euromash.kiev.ua/ua/sborniki_emal_ua.php]
РС-28	Розпилювальна сушарка	1	Розпилювальна сушарка LPG-200 з продуктивністю по випареній волозі 200 кг/год. [https://www.griffinmachinery.com/uk/%d0%b2%d1%96%d0%b4%d1%86%d0%b5%d0%bd%d1%82%d1%80%d0%be%d0%b2%d0%b0-%d1%80%d0%be%d0%b7%d0%bf%d0%b8%d0%bb%d1%8e%d0%b2%d0%b0%d0%bb%d1%8c%d0%bd%d0%b0-%d1%81%d1%83%d1%88%d0%b0%d1%80%d0%ba%d0%b0/]

ПЄ-29	Пересувна ємність	1	Бін LDT 200, внутрішній об'єм 200 л, довжина – 770 мм, ширина – 694 мм, висота – 946 мм [https://www.chinacanaan.com/pharma-bin-Series-parts/ldt-pharma-bin.html]
ФПМ-30	Фасувально-пакувальна машина для порошку	1	Установка фасувально-пакувальна УФИ-3, з ваговим дозатором, діапазон зважування 0,03-2 кг, продуктивність 18 упаковок/хв, пакувальний матеріал – поліпропіленова або багатошарова плівку. [https://plivkaipakety.com.ua/ua/p497048008-ustanovka-fasovochno-upakovochnaya.html]

У таблиці 6.2 представлено специфікацію технологічного обладнання для отримання крему з софороліпідами, що наведено на апаратурній схемі.

Таблиця 6.2

Специфікація обладнання ділянки виготовлення крему з софороліпідами

№ поз.	Назва	К-ть	Технічні характеристики
P-1	Реактор (Мобільна установка УРСГ-100-1)	1	<p>Мобільна установка УРСГ-100-1 у складі реактора та вакуум системи.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Галузь застосування - Фармацевтична та косметична промисловості; • Тип корпусу, згідно ГОСТ 20680-2002 - 1 – зварний, з еліптичним днищем та еліптичною відкидною кришкою; • Робочий об'єм, л – 100; • Мін об'єм, що перемішується, л – 10 л; • Оснащення механізмами - Підйому (відкриття) кришки реактора, наявності якірної тихохідної мішалки, теплообмінної сорочки з вбудованими ТЕН, вакуум системи; • Матеріали, що контактують із продуктом - Сталь AISI 316L; тефлон; silicon; • Матеріали, які не контактують із продуктом - Сталь AISI 304; • Робочий тиск у корпусі, бар - від – 0,7 до + 0,5;

Продовження табл. 6.2

			<ul style="list-style-type: none"> • Робоча T° у корпусі, $^{\circ}\text{C}$ - +18.....+95; • Тип мішалки - Якірна, асиметрична з розвиненою поверхнею перемішування та плаваючими скребками; <p>Габарити реактора, мм, не більше – Довжина: 1430, Ширина: 810, Висота: 1700 [1].</p>
ВД-2	Ваговий дозатор для рідин	1	<p>Ваговий дозатор призначений для дискретного автоматичного рецептурного дозування у процесі отримання розчинів та рідких компонентів.</p> <p>Ваговий дозатор рідких компонентів складається з бункера, який закріплений на невеликому каркасі, та комплектується впускним та випускним кранами з пневмоприводами та датчиками положення. Бункер, місткістю 50 літрів, виготовлений з харчової нержавіючої сталі та встановлюється на тензодатчиках.</p> <p>Комплектація дозатора:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Тензодатчики фірми «Flintec». • Місткість об'ємом 50 л. • Пульти управління. • Два крани з пневмоприводом. • Пневморозподільники. <p>Датчики положення [2].</p>
Н-3, Н-5, Н-9	Насос	3	<p>Герметичний відцентровий насос з магнітною муфтою DM 10.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Продуктивність 1,0 - 13,0 м³/год (16,6 - 216 л/хв), напір до 13,5 м вод. ст. • Робоча точка насоса - подача 8 м³/год (133,3 л/хв) при тиску 8,5 м вод. ст. • Робоче колесо Ø 98 мм. • Вхід G 1 1/2" BSP. • Вихід G 1" BSP. <p>Розміри, мм – Довжина: 471, Діаметр корпусу: 146 [3].</p>
Р-4	Реактор-охолоджувач (Реактор РСГ-100)	1	<p>Реактор РСГ-100:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Об'єм, л – 100; • Робочий тиск у корпусі та у сорочці, бар – атмосферний; • Мінімальна допустима робоча температура у корпусі та у сорочці, $^{\circ}\text{C}$ - +5; • Максимальна робоча температура у корпусі та сорочці, $^{\circ}\text{C}$ - +80. <p>Габарити реактора, мм, – Довжина: 1073, Ширина: 1069, Висота: 1426 [4].</p>

ПБ-6	Приймальний бункер	1	<p>Міцний приймальний бункер, призначений для установки в автоматичних системах подачі продукту.</p> <p>Завантажувальний бункер для систем подачі може вміщувати до 90 кг продукту/110 л. Розміри: Ширина – 0,7 м; висота – 0,9 м [5].</p>
РГ-7	Гомогенізатор роторний для диспергування	1	<p>Гомогенізатор роторний для диспергування і приготування високодисперсних, гомогенізованих емульсій і суспензій, багатоконпонентний склад яких складається з речовин, що важко змішуються. Одночасно з диспергуванням гомогенізатор здійснює перекачування гомогенізованого продукту. Гомогенізатор обладнаний двигуном потужністю до 1,5 кВт, має продуктивність до 500 літрів на годину та змонтований на мобільному візку. Пульти оснащений частотним регулятором для регулювання обертів ротора, дисплеєм для відображення температури продукту, таймером, що відображає час роботи гомогенізатора, заздалегідь заданий оператором (без комутації процесів) і сигнальною лампою, що сигналізує про закінчення заданого інтервалу часу. Область застосування: харчова, косметична та фармацевтична промисловість.</p> <p>Габарити – Довжина: 1184 мм, Ширина: 500 мм, Висота: 1100 мм [6].</p>
ВЗ-8	Вакуум-збірник (Реактор РСГМ-100ВК)	1	<p>Реактор РСГМ-100ВК:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Робочий об'єм реактора, л – 100; • Робочий тиск у реакторі, бар – в корпусі: -0,9 до +2,5; у сорочці: атмосферний. • Матеріали виготовлення - сталь AISI 316 L, ASTM США(03X17H14M3 ГОСТ 5632-72), сталь AISI 304, ASTM США(08X18H10 ГОСТ 5632-72). <p>Розміри, мм – довжина: 1571, ширина: 750, висота: 1706 [7].</p>
МН-10	Машина для наповнення та закупорювання туб	1	<p>Машина для наповнення та закупорювання туб NEWECO NTA-400A призначена для наповнення туб кремом, їх закриття (укупорювання) та штампування дати або номера серії. Продуктивність: до 25 туб/хв [8].</p>

1. <https://promvit.com.ua/mobilna-ustanovka-ursg-100-1-u-skladi-reaktora-ta-vakuum-sistemi/>

2. https://www.vostok.dp.ua/ukr/catalog/scale/weighing_batcher-monorail_scales/product.html?id=4115
3. https://www.vicaqua.com.ua/chemical_pumps/pumps_magnetic/dm_10/
4. <https://promvit.com.ua/reaktor-rsg-100-bez-vakuuma/>
5. https://agroprolisok.com.ua/ua/p-priemnyj-bunker.html?gclid=CjwKCAjw__ihBhADEiwAXEazJqtXQXBmMtehtlFa03KUfsxxTkX7Cw7CuYUNp99809O75ABcTEaowhoC894QAvD_BwE
6. <https://promvit.com.ua/gomogenizator-rotornyj-dlya-emulsij-suspenzij-mazej-kremov/>
7. <https://promvit.com.ua/reaktor-rsgm-100vk-reaktor-vakuumnyj-100-l-s-vneshnim-konturom/>
8. <http://www.neweco.biz/ru/oborudovanie/mashina-dlya-napolneniya-i-ukuporki-tub-nta-400/>

РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ (ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНЕ ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ, ОТРИМАННЯ ГОТОВОГО ПРОДУКТУ)

7.1. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення цільового продукту.

Технологічна схема післяферментаційних етапів виділення та очищення софороліпідів складається з наступних технологічних процесів: зберігання культуральної рідини, видалення біомаси, виділення софороліпідів, очищення софороліпідів, сушіння і пакування та маркування. Апаратурна та технологічна схеми виділення та очищення софороліпідів наведено в графічній частині роботи.

ДР 1. Підготовка сушильного агента

ДР 1.1. Забір повітря

Забір атмосферного повітря здійснюють на висоті 17 м, використовуючи вертикальну трубу з повітрязабірником (ПЗ-1).

ДР 1.2. Грубе очищення повітря

Повітря подають на фільтр грубого очищення (Ф-2), для видалення крупних частинок бруду та пилу (розмір часток до 1 мкм). Ступінь очищення – 90 %.

ДР 1.3. Нагрів повітря

Повітря після грубого очищення подається в калорифер (К-3), де відбувається його нагрівання до температури 250 °С.

ДР 2. Підготовка води очищеної

ДР 2.1. Отримання очищеної води

Воду питну направляють в промислову систему електродеіонізації (ПСЕ-4), яка вміщує рулонні модулі з аніоно- та катіонообмінних мембран.

					НУХТ БТЕК КР 02.01.03. ПЗ		
Змн	Арк.	№	Підпис	Дат			
Розроб.	Павлієнко				Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.	Пирог Т.П.					85	7
Н. Контр.					10		
Затверд.	Стабніков				Кафедра БТМ		
					РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ (ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНЕ ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ)		

Після очищення воду направляють в збірник (З-5), де відбувається перевірка на відповідність чистоті та подальше зберігання.

ДР 3. Приготування екстрагенту

ДР 3.1. Приготування суміші етилацетату та ізопропанолу

В збірник об'ємом 400 л (З-10) подають 276 л етилацетату та 69 л ізопропанолу, після завантаження компонентів вмикають перемішуючий пристрій для їх рівномірного розподілу. В подальшому отриманий розчин зберігається в даному реакторі до використання на наступних стадіях.

ТП 4. Зберігання культуральної рідини

ТП 4.1. Зберігання культуральної рідини

В результаті закінчення ферментаційного циклу, 366,54 л культуральної рідини з ферментера направляють в реактор-змішувач (Р-6) об'ємом 400 л, де відбувається її зберігання до початку стадій виділення та очищення цільового продукту. Зберігання відбувається за температури 4 °С (для цього в сорочку реактора подають холодну воду) з періодичним перемішуванням (50 об/хв).

ТП 5. Видалення біомаси

ТП 5.1. Центрифугування

Культуральну рідину з реактора-змішувача об'ємом 400 л (Р-6) відцентровим насосом (Н-7) подають в центрифугу (Ц-8), де відбувається виділення біомаси з культуральної рідини при 5000 об/хв впродовж 15 хв. Отриманий супернатант насосом (Н-9) направляють в реактор об'ємом 1 м³ (Р-12), де відбувається зберігання до використання на наступній стадії. Біомасу направляють на знешкодження.

ТП 6. Виділення софороліпідів

ТП 6.1. Екстракція софороліпідів

Екстрагент (від ДР 3.1) насосом (Н-11) вносять до супернатанту в реактор об'ємом 1 м³ (Р-12), після внесення розчину вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв). Після рівномірного розподілу компонентів вмикають перемішуючий пристрій та проводять відстоювання

впродовж 30 хв, для поділу фаз. Через 30 хв водний розчин зливають на утилізацію, а екстракт залишають в даному збірнику до використання на наступній стадії.

ТП 6.2. Концентрування екстракту

Екстракт з реактора (P-12) за допомогою насоса (H-13) направляють в вакуум-випарну установку (ВПУ-14), де відбувається концентрування розчину в 2 рази, процес відбувається при температурі 80 °С. Після досягнення відповідного рівня концентрування розчин за допомогою насоса (H-15) направляють в реактор об'ємом 400 л (P-16), де відбувається зберігання до наступної стадії.

ТП 6.3. Видалення олії

В реактор з концентратом (P-16) вносять 165 л *n*-гексану та вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв). Після рівномірного розподілу компонентів розчин залишають для поділу фаз, та в подальшому розчин софороліпідів (нижня фаза) перекачують насосом (H-17) у збірник об'ємом 250 л (З-18), де відбувається зберігання до використання на наступній стадії. Розчин з олією (верхня фаза) направляють в вакуум-випарну установку (ВПУ-14) для відновлення *n*-гексану.

ТП 7. Очищення софороліпідів

ТП 7.1. Адсорбційне очищення софороліпідів

В адсорбційну колону (АК-22) завантажують 40 л полімерної адсорбційної смоли AmberLite XAD 1600 N, та за допомогою насоса (H-19) подають розчин софороліпідів з збірника (З-18), зі швидкістю 1 л розчину на 1 л смоли за 1 год, процес пропускання розчину триватиме 4 год. Розчин з колонки подають в вакуум-випарну установку (ВПУ-14), де відбувається випарювання екстрагенту, який після випарювання подається в збірник (З-10), з якого в подальшому буде повторно використовуватись. Після адсорбування софороліпідів на смолі в колонку подають 80 л води очищеної для промивання смоли (від ДР 2.1) та в подальшому проводять десорбцію софороліпідів. Процес елюювання відбувається ацетоном, який

направляється в колонку з збірника об'ємом 400 л (З-20) за допомогою насоса (Н-21), з швидкістю 2 л ацетону на 1 л смоли за 1 год, процес триватиме 4 год. Отриманий елюат за допомогою перистальтичного насоса (Н-23) направляють в збірник (З-24) об'ємом 400 л, де відбувається зберігання до наступної стадії.

ТП 7.2. Концентрування елюату

Елюат з збірника (З-24) за допомогою насоса (Н-25) направляють в вакуум-випарну установку (ВПУ-14), де відбувається концентрування розчину в 2 рази, процес відбувається при температурі 60 °С. Після досягнення відповідного рівня концентрування розчин за допомогою насоса (Н-15) направляють в збірник (З-26) об'ємом 250 л, де відбувається зберігання до наступної стадії.

ТП 8. Сушіння

ТП 8.1. Сушіння концентрату

Концентрат об'ємом 120 л (від ТП 7.2) з збірника (З-26) насосом (Н-27) подається до розпилювальної сушарки (РС-28), де відбувається його сушіння при температурі 90 °С. В якості сушильного агента виступає нагріте повітря (від ДР 1.3). Після закінчення процесу сушіння порошок софороліпідів подається в пересувну ємність (ПЄ-29).

ПМВ 9. Пакування та маркування

ПМВ 9.1. Пакування та маркування порошкоподібних софороліпідів

Порошкоподібні софороліпіди фасують за допомогою фасувально-пакувальної машини (ФПМ-30) у поліетиленові пакети по 100 г. На готовий продукт наносять маркування, вказують назву товару, дату виготовлення, номер серії та термін придатності, поліетиленові пакети поміщають в картонні коробки, які складають на палети і направляють на склад, після чого відбирають проби для контролю якості.

7.2. Опис технологічної схеми одержання крему.

7.2.1. Допоміжні роботи.

ДР 1. Підготовка води очищеної.

Вода спочатку проходить через фільтр грубої очистки, щоб вилучити частки, розмір яких перевищує 100 мкм. Потім вона направляється до системи пом'якшення, де іони кальцію і магнію замінюються іонами натрію. Далі вода проходить через патронний вугільний фільтр для зменшення вмісту органічних речовин і хлору. Послідовно вона проходить через установку зворотного осмосу для очищення від органічних сполук і солей за допомогою мембран з розмірами пор від 0,0005 до 0,001 мкм. Після цього проводиться фотохімічне окислення води за допомогою ультрафіолетових променів з довжинами хвиль 185 і 245 нм. Далі вода проходить через ультрафільтраційну установку з розмірами пор від 0,001 до 0,05 мкм, після чого проводиться деіонізація на колонках із іонообмінною смолою. Завершальним етапом є проходження деіонізованої води через багатокорпусну дистиляційну установку.

ДР 2. Підготовка компонентів крему.

ДР 2.1. Змішування та підігрів компонентів крему.

В реактор (Р-1) для приготування емульсії, обладнаний сорочкою для обігріву маси і пропелерною мішалкою завантажують безосередньо в реактор 0,39 кг софороліпідів, 2,93 кг сополімеру акрилату натрію та лецитину, 0,488 кг феноксіетанол та метилізотіазолінон, та 0,039 кг ефірної олії пальмарози. Далі по трубопроводу самоплином через ваговий дозатор (ВД-2) подають 4,88 кг гліцерину. Далі до розплавленої маси додають 88,875 л води очищеної температурою 70-75 °С. Суміш ретельно перемішують (5 хв за 400 об/хв) та підігрівають до температури 70-75 °С.

7.2.2. Стадії технологічного процесу.

ТП 3. Емульгування.

ТП 3.1. Емульгування суміші компонентів крему.

На даному етапі отримана на попередньому етапі суміш піддається процесу емульгування в реакторі (Р-1). Даний процес проводять на протязі

10-15 хв. при температурі 70-75 °С. Далі суміш перекачується за допомогою наносу (Н-3) до реактора-охолоджувача (Р-4) для подальшої обробки.

ТП 4. Охолодження.

ТП 4.1. Охолодження отриманої емульсії.

Охолодження емульсії проводять при перемішуванні в реакторі-охолоджувачі (Р-4), який забезпечений водяною сорочкою, рамною мішалкою та скребковим механізмом. Перші 20-25 хв. охолодження ведуть без подачі у сорочку охолодженої води, потім для прискорення охолодження у сорочку подають холодну воду. Потім охолодження продовжують до 30–32 °С.

ТП 5. Пластична обробка.

ТП 5.1. Пластична обробка грубої емульсії.

Для отримання однорідності, покращення пластичних властивостей і консистенції, а також зовнішнього вигляду крему його перекачують насосом (Н-5) у приймальний бункер (ПБ-6) над роторним гомогенізатором (РГ-7) та піддають пластичній (механічній) обробці. Двократне пропускання кремової маси температурою 30-34 °С через гомогенізатор помітно покращує емульгування, структуру крему, що можна легко спостерігати при перегляді мазка крему під мікроскопом. При проходженні гомогенізатора водяні частинки (кульки) стають більш дрібними. В результаті кремова маса біліє, робиться більш в'язкою, значно змінюється структура крему. В подальшому готовий крем надходить у вакуум-збірник (ВЗ-8) і після отримання позитивного аналізу в лабораторії передається по трубопроводу за допомогою наносу (Н-9) на фасування у туби.

ПМВ 6. Фасування, маркування та упакування готового крему

ПМВ 6.1. Фасування крему в туби

Отриману емульсію за допомогою машини для наповнення та закупорювання туб (МН-10) фасують по 30 г у туби з бушоном.

ПМВ 6.2. Пакування туб у пачки

Туби з інструкцією до застосування пакують у пачки на автоматі пакування туб у пачки.

ПМВ 6.3. Пакування пачок у коробки

На пакувальному столі проводять пакування пачок у коробки. Перевіряють маркування на груповій етикетці. Готову продукцію відправляють на склад.

**РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ПРОДУКТУ
МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ (ПІДБІР СУЧАСНИХ МЕТОДІВ
КОНТРОЛЮ ВИРОБНИЦТВА)**

8.1. Контроль виробництва субстанції. Оскільки порошкоподібні софороліпіди, отримані в результаті процесів виділення та очищення, пропонуються до використання в косметологічній галузі, то контроль їхньої якості необхідно здійснювати згідно з фармакопейними вимогами. Отже, софороліпіди перевіряють за показниками: опис, ідентифікація, втрата маси при висушуванні, загальна зола, важкі метали, кількісне визначення, протимікробна дія (табл. 8.1) [107, 108].

Таблиця 8.1

Контроль якості софороліпідів

<i>Показник якості</i>	<i>Нормативне значення</i>	<i>Методика контролю</i>
Опис	Порошок білого або жовтуватого кольору	Візуально
Ідентифікація	Вміст кислих форм софороліпідів має бути в межах від 30 % до 40 %, вміст лактонових форм – від 60 % до 70 %	За п. 2 методів контролю
Втрата маси при висушуванні	Не більше 10 %	ДФУ, 2.2.32
Загальна зола	Не більше 0,1 %	ДФУ, 2.4.16
Важкі метали	Не більше 0,001 %	ДФУ, 2.4.8
Кількісне визначення	Вміст софороліпідів має бути не менше 90 %	За п. 6 методів контролю
Протимікробна дія	Мінімальна інгібуюча концентрація софороліпідів при дії на <i>Propionibacterium acnes</i> повинна бути не більше 0,24 г/л	За п. 7 методів контролю

					НУХТ БТЕК КР 02.01.03. ПЗ			
Змн	Арк.	№	Підпис	Дат				
Розроб.	Паєлієнко				РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ПРОДУКТУ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ (ПІДБІР СУЧАСНИХ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ВИРОБНИЦТВА)	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.	Пирог Т.П.						92	6
Н. Контр.					1 / Кафедра БТМ			
Затверд.	Стабніков							

Методи контролю

1) Опис. Порошок білого або жовтуватого кольору. Визначають візуально.

2) Ідентифікація. Ідентифікацію софороліпідів здійснюють за методикою, вказаною в статті [108]. Для аналізу застосовують високоефективну рідинну хроматографію з мас-спектрометрією. Рідинний хроматограф: Agilent 1260 з автосамплером і колонкою ZORBAX Eclipse XDB-C18. Як рухомих фаз використовують лінійний градієнт ацетонітрилу (20-100 %) та води. Режим роботи хроматографа: перші 15 хв – 20 %-й ацетонітрил, далі 20-80 %-й ацетонітрил упродовж 25 хв, 80-100 %-й ацетонітрил протягом 10 хв і 100 %-й ацетонітрил 20 хв; швидкість подачі рухомих фаз – 0,5 мл/хв. Після проходження хроматографа софороліпіди пропускають через мас-спектрометр, де вони іонізуються електророзпиленням, після чого здійснюється визначення співвідношення маси іонів до їхніх зарядів (m/z). Зразок має складатися на 30-40 % з кислих форм софороліпідів і на 60-70 % – з лактонових форм.

3) Втрата маси при висушуванні. Визначення втрати маси зразка при висушуванні здійснюється згідно з методикою, наведеною в ДФУ 2.2.32. Наважку софороліпідів масою 1 г поміщають у попередньо висушений зважений бюкс і висушують в ексікаторі над фосфор (V) оксидом у вакуумі (1,5-2,5 кПа) за температури 80 °С до постійної маси. Втрата маси при висушуванні повинна бути не більше 10 %.

4) Загальна зола. Визначення вмісту загальної золи здійснюється згідно з методикою, наведеною в ДФУ 2.4.16. Порцеляновий, кварцовий або платиновий тигель нагрівають при червоному жару протягом 30 хв, охолоджують в ексікаторі і зважують. Наважку софороліпідів масою 1,00 г поміщають у тигель і рівномірно розподіляють по дну. Висушують за температури від 100 °С до 105 °С протягом 1 год і потім спалюють до постійної маси у муфельній печі за температури від 575 °С до 625 °С, охолоджуючи тигель в ексікаторі після кожного спалювання. Протягом усієї

процедури в тиглі не повинно з'являтися полум'я. Якщо після тривалого спалювання зола все ще містить темні частки, вміст тигля кількісно переносять гарячою водою на беззолний фільтр і спалюють залишок на фільтрі разом з фільтрувальним папером. Фільтрат об'єднують із золою, обережно випарюють до сухого залишку і спалюють до постійної маси. Вміст загальної золи повинен бути не більше 0,1 %.

5) Важкі метали. Визначення вмісту важких металів здійснюється згідно з методикою, наведеною в ДФУ 2.4.8. Наважку софороліпідів масою 1 г помішають у мірну колбу об'ємом 100 мл, додають воду очищену до мітки, перемішують до розчинення. З отриманого розчину відбирають аліквоту об'ємом 12 мл, змішують її з 2 мл буферного розчину рН 3,5 Р і перемішують. Одержану суміш додають до 1,2 мл реактиву тіоацетаміду Р і негайно перемішують. Паралельно за тих самих умов готують еталон, використовуючи замість 12 мл випробовуваного розчину суміш 10 мл еталонного розчину свинцю (1 ppm або 2 ppm Pb) Р і 2 мл випробовуваного розчину. Також готують холостий розчин, використовуючи суміш 10 мл води очищеної і 2 мл випробовуваного розчину. Порівняно з холостим розчином еталон повинен мати світло-коричневе забарвлення. Через 2 хв коричневе забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим за забарвлення еталона. Вміст важких металів повинен бути не більше 0,001 %.

6) Кількісне визначення. Кількісне визначення софороліпідів здійснюють за методикою, вказаною в статті [108], методом високоефективної рідинної хроматографії. Рідинний хроматограф та режим його роботи ідентичні тим, що використовуються під час проведення випробування **Ідентифікація**. Детекцію софороліпідів здійснюють за допомогою УФ-детектора за довжини хвилі світла 207 нм. Вміст софороліпідів повинен бути не менше 90 %.

7) Протимікробна дія. Протимікробний ефект софороліпідів оцінюють шляхом визначення мінімальної інгібуючої концентрації, за якої пригнічується ріст *Propionibacterium acnes* [109].

Колекційну культуру *Propionibacterium acnes*, яка зберігається в пробірці на скошеному агаризованому середовищі, в асептичних умовах висівають бактеріологічною петлею на рідке середовище RCB (Reinforced Clostridium Broth), після чого здійснюють інкубування в анаеробному боксі за температури 37 °С протягом 36 год задля отримання концентрації клітин бактерій на рівні 10^6 - 10^7 КУО/мл. Під час інкубування готують маточний розчин софороліпідів шляхом розчинення 0,108 г зразка в 100 мл диметилсульфоксиду, після чого готують серію розведень з метою отримати концентрації софороліпідів 0,72 г/л, 0,48 г/л, 0,24 г/л та 0,12 г/л при внесенні їх у культуральну рідину. Отримані розчини вносять в рідке середовище RCB, після чого продовжують інкубування протягом 84 год (загальний час культивування має становити 120 год), вимірюючи оптичну густину культуральної рідини колориметрично за довжини хвилі 600 нм кожні 12 год. Мінімальна інгібуюча концентрація софороліпідів повинна бути не більше 0,24 г/л.

Пропис необхідного для аналізу поживного середовища [110]:

Середовище RCB

○ ензиматичний гідролізат казеїну	10,0 г
○ м'ясний екстракт.....	10,0 г
○ дріжджовий екстракт	3,0 г
○ глюкоза	5,0 г
○ натрію хлорид	5,0 г
○ натрію ацетат	3,0 г
○ розчинний крохмаль	1,0 г
○ L-цистеїну гідрохлорид	0,5 г
○ вода очищена	1000 мл
рН після стерилізації	6,6 – 7,0

8.2. Контроль виробництва готового продукту. Визначення стабільності емульсійного крему. Визначення стабільності емульсійного

крему відбувається за ДСТУ 4765:2007 . Проводиться аналіз на термостабільність емульсії та колоїдну стабільність.

Метод на встановлення колоїдної стабільності базується на поділі емульсії на жирову і водну фази при центрифугуванні.

Дві пробірки наповнюють на $2/3$ об'єму досліджуваною емульсією і зважують, результат записують до другого десяткового знаку. Різниця маси пробірок з емульсією не повинна перевищувати 0,2 г. Пробірки поміщають у водяну баню або термостат і витримують 20 хв., при температурі 22-25 °С.

Пробірки виймають, насухо витирають їх із зовнішнього боку і встановлюють в гнізда центрифуги. Центрифугування проводять протягом 5 хв. при частоті обертання 100.

Емульсію вважають стабільною, якщо після центрифугування в пробірках спостерігають виділення не більше краплі водної фази або шару масляної фази не більше 0,5 см.

Метод визначення термостабільності емульсії полягає на поділі емульсії на жирову і водну фази при підвищеній температурі.

Три пробірки діаметром 14 мм висотою 120 (100) мм або циліндри місткістю 25 см³ наповнюють на $2/3$ обсягу випробуваною емульсією, стежачи за тим, щоб в емульсії не залишалося бульбашок повітря, закривають пробками і поміщають в термостат з температурою 40-42 °С. Емульсії витримують в термостаті 24 год і потім визначають стабільність.

Емульсію вважають стабільною, якщо після термостатування в пробірках не спостерігають виділення водної фази, допускається виділення шару масляної фази не більше 0,5 см [111].

Встановлення органолептичних та сенсорних властивостей емульсії. Визначення сенсорних та органолептичних властивостей емульсії проводиться за ДСТУ 4765:2007 «Креми косметичні. Загальні технічні умови». Зовнішній вигляд, колір продукції, що має консистенцію емульсії, визначають переглядом проби, поміщеної на аркуш білого паперу рівним

шаром (товщиною близько 1 см) або в стакан, визначення проводять на тлі аркуша білого паперу в прохідному або відбитому світлі.

Однорідність зазначеної продукції визначають на дотик легким розтиранням проби на відсутність грудок, крупинок і інших сторонніх включень, не передбачених для даного найменування і назви продукції.

Запах визначають органолептичним методом з використанням смужки щільного паперу розміром 10*160 мм, змоченою приблизно на 30 мм зануренням в аналізовану рідину.

Запах продукції визначають органолептичним методом з використанням водного розчину з масовою часткою продукції 10% при температурі розчину від 40 °С до 45 °С.

Для приготування водного розчину проби 10,00 г продукту поміщають в стакан, додають 90 мл дистильованої води і перемішують за допомогою скляної палички або магнітної мішалки [111, 112, 113].

Визначення рН проводиться по ГОСТ 29188.2-91. Згідно цього ГОСТу в косметичних виробках, які мають рідку консистенцію вимірювання рН проводять безпосередньо у випробовуваній рідині. В косметичних виробках, які мають густу консистенцію (крем типу масло/вода), рН вимірюють у водному розчині з масовою долею продукту від 1 до 20%. Концентрацію розчину вказують в нормативно-технічній документації на відповідний виріб.

Приготовлений розчин помістили в стакан ємністю 50 см³, кінці електродів занурюють у досліджувану рідину. Електроди не повинні торкатись стінок та дна склянки. Значення рН визначають за показами шкали приладу [114].

РОЗДІЛ 9. ПРОЕКТ ТЕХНІЧНИХ УМОВ (ТУ) НА ВИПУСК ТОВАРНОЇ ФОРМИ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

9.1. Сфера застосування[5].

Цей проект технічних умов поширюється на косметичні креми, призначені для догляду за шкірою.

Проект технічних умов не поширюється на креми для гоління.

Вимоги щодо безпеки косметичних кремів та щодо охорони довкілля викладені у розділах 9.4, 9.5 і 9.6 цього проекту технічних умов.

9.2. Технічні вимоги.

Косметичні креми — це суміш синтетичних і натуральних інгредієнтів: жирів, восків, олій, олив, води, емульгаторів, рослинних настоїв або екстрактів, вітамінів, барвників, антиоксидантів, консервантів, запашок та інших добавок, що забезпечують спожиткові властивості кремів.

Емульсійні креми — це однорідна суміш (емульсія) двох основних фаз: водної та жирової типу вода/олива, олива/вода або змішаного типу, у які можуть бути внесені біологічно активні добавки (вітаміни, настої та екстракти рослинної сировини тощо).

9.2.1. Основні показники і (або) характеристики (властивості).

Косметичні креми мають відповідати вимогам цього стандарту, їх потрібно виготовляти за рецептурами та технічними вимогами на конкретні назви кремів, погодженими центральним органом виконавчої влади у сфері охорони здоров'я, за технологічними інструкціями (регламентами), затвердженими в установленому порядку.

Косметичні креми за органолептичними та фізико-хімічними показниками мають відповідати вимогам, наведеним у таблиці 9.1.

					НУХТ БТЕК КР 02.01.03. ПЗ			
Змн	Арк.	№	Підпис	Дат	РОЗДІЛ 9. ПРОЕКТ ТЕХНІЧНИХ УМОВ (ТУ) НА ВИПУСК ТОВАРНОЇ ФОРМИ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	Літ.	Арк.	Акрушіє
Розроб.	Павлієнко						98	13
Перевір.	Пирог Т.П.							23
Н. Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.	Стабніков							

Значення показників на конкретний косметичний крем мають бути наведені у технічних вимогах на крем певної назви.

Таблиця 9.1

**Органолептичні та фізико-хімічні показники косметичних кремів
(емульсійні креми)**

Назва показника	Характеристика і норма	Метод випробовування
Зовнішній вигляд	Однорідна маса без сторонніх домішок	ГОСТ 29188.0
Колір	Властивий кольору, встановленому у технічних вимогах на крем конкретної назви	ГОСТ 29188.0
Запах	Властивий запаху, встановленому у технічних вимогах на крем конкретної назви	ГОСТ 29188.0
Масова частка води і летких речовин, %	5,0 — 98,0	ГОСТ 29188.4
Водневий показник (рН)	5,0 — 9,0	ГОСТ 29188.2
Колоїдна стабільність	Стабільна	ГОСТ 29188.3
Термостабільність	Стабільна	ГОСТ 29188.3

Косметичні креми за мікробіологічними показниками мають відповідати вимогам, наведеним у таблиці 9.2.

Таблиця 9.2

Мікробіологічні показники косметичних кремів

Назва показника	Характеристика і норми	Метод випробовування
Кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів, КУО/г (см ³), не більше ніж	1000	9.6.9
Бактерії <i>Enterobacteriaceae</i> в 1 г (см ³)	Немає	9.6.9
<i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г (см ³)	Немає	9.6.9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г (см ³)	Немає	9.6.9
Кількість дріжджів та пліснявих грибів, КУО/г (см ³), не більше ніж	100	9.6.9

9.2.2. Вимоги до сировини.

Для виготовлення косметичних кремів використовують сировину згідно з чинною нормативною документацією або закордонного виробництва, дозволена центральним органом виконавчої влади у сфері охорони здоров'я України для використання у виробництві косметичної продукції.

Кожна партія сировини, що надходить на виробництво, повинна мати супровідний документ встановленої форми, який підтверджує її якість і безпечність.

9.2.3. Пакування.

Пакування косметичного крему повинне відповідати вимогам ГОСТ 27429 (для крему рідкої консистенції) та ГОСТ 28303 (для крему густої консистенції).

Спожиткову тару заповнюють косметичним кремом відповідно до маси або об'єму, встановлених у технічних вимогах на крем конкретної назви.

Допустимі від'ємні відхилення від номінальної маси становлять для маси (об'єму):

- до 50 г (см³) включно — 6 %;
- від 50 г (см³) до 100 г (см³) включно — 4,5 г (см³);
- від 100 г (см³) — 4,5 %.

9.2.4. Маркування.

Маркування спожиткової тари із косметичним кремом має відповідати вимогам ГОСТ 27429 (для крему рідкої консистенції) та ГОСТ 28303 (для крему густої консистенції) із таким доповненням:

— номер або спеціальний код виробничої партії.

Масу нетто (у грамах), об'єм (у міліметрах або кубічних сантиметрах) номінального вмісту косметичного крему у пакуванні зазначають під час пакування, за винятком випадків, коли крем має масу менше ніж 5 г або об'єм менше ніж 5 мл (см³), або є безкоштовним зразком.

Мінімальний термін придатності зазначають так: «Придатний (Потрібно використати) до (місяць, рік)» або «Термін придатності (місяців, років)» із зазначенням у цьому випадку дати виготовлення або місця на пакованні, де цю дату нанесено.

Перелік інгредієнтів має починатися заголовком «Інгредієнти» або «Склад».

Інгредієнти, масова частка яких становить менше ніж 1 %, можна наводити у будь-якому порядку після тих інгредієнтів, масова частка яких більше ніж 1 %.

Суміш запашних речовин дозволено зазначати як один інгредієнт термінами «запахка», «ароматична композиція», «парфумерна композиція» або «композиція-база», не зазначаючи її склад.

Барвники можуть бути наведені у будь-якому порядку після інших інгредієнтів.

Маркують транспортну тару згідно з ГОСТ 27429 та ГОСТ 28303.

9.3. Вимоги безпеки.

Косметичні креми за показниками безпеки мають відповідати вимогам ДСанПіН 2.2.9.027 [1].

Перелік сировини, не дозволеної у складі косметичних кремів, наведено в додатку 3 ДСанПіН 2.2.9.027 [1].

Періодичність контролювання повітря робочої зони встановлюють згідно з ГОСТ 12.1.005.

Виробничі приміщення мають бути обладнані загальнообмінною припливно-витяжною вентиляцією згідно зі СНиП 41-01 [2] і ГОСТ 12.4.021, забезпечені питною водою згідно з ГОСТ 2874 та повинні мати каналізацію. Опалювання, вентиляція та кондиціонування повітря мають відповідати вимогам СНиП 41-01 [2].

Технологічне устаткування має відповідати вимогам ГОСТ 12.2.003.

Загальні вимоги до технологічного процесу мають відповідати вимогам ГОСТ 12.3.002.

Організаційно-технічні заходи, що гарантують пожежну безпеку, потрібно виконувати згідно з ГОСТ 12.1.004 та НАПБ А.01.001 [3].

Застосовують такі засоби пожежогасіння: вогнегасний порошок класу В, тонкорозпорошену воду, повітряно-механічну піну, зріджений діоксид вуглецю.

Виробничий персонал повинен бути забезпечений такими засобами індивідуального захисту: халатами згідно з ГОСТ 12.4.131 та ГОСТ 12.4.132; захисними окулярами згідно з ГОСТ 12.4.013; гумовими рукавичками згідно з ГОСТ 20010. Під час виконання технологічних операцій з леткою косметичною сировиною потрібно використовувати респіратор ШБ-1 «Лепесток» згідно ГОСТ 12.4.028. Можна використовувати інші засоби індивідуального захисту згідно з чинною нормативною документацією.

9.4. Вимоги охорони довкілля.

Контролюють викиди шкідливих речовин у атмосферу згідно з вимогами ДСП 201 [4].

Захист ґрунту від забруднення побутовими і промисловими відходами здійснюють згідно з вимогами СанПиН 42-128-4690 [5].

Утилізують промислові відходи згідно з вимогами ДСанПиН 2.2.7.029 [6].

Захист поверхневих вод від забруднення здійснюють згідно з вимогами СанПиН 4630 [7].

9.5. Правила приймання.

Косметичний крем приймає підприємство-виробник згідно з ГОСТ 29188.0 та вимогами цього стандарту.

Для перевіряння відповідності косметичного крему вимогам цього стандарту проводять приймально-здавальне та періодичне випробовування.

Приймально-здавальне випробовування виконують за зовнішнім виглядом пакування і маркування, за органолептичними показниками: зовнішнім виглядом, кольором і запахом — та за фізико-хімічними показниками: водневим показником рН, температурою краплепадиння для

жирового крему, колоїдною стабільністю для емульсійного крему та крему на гелевій основі.

Періодичні випробовування виконують за масовою часткою води та летких речовин, за термостабільністю для емульсійного крему та крему на гелевій основі та за мікробіологічними показниками не рідше ніж один раз на квартал.

9.6. Методи контролювання (випробування, аналізу, вимірювання).

Відбирають проби згідно з розділом 2 ГОСТ 29188.0. Маса усередненої сукупної проби косметичного крему для визначання органолептичних та фізико-хімічних показників має бути не менше ніж 150 г.

Відбирають проби для визначання мікробіологічних показників згідно з 9.6.9. Для визначання мікробіологічних показників маса усередненої сукупної проби має бути не менше ніж 15 г.

9.6.1. Визначання зовнішнього вигляду

Зовнішній вигляд визначають згідно з розділом 3 ГОСТ 29188.0.

9.6.2. Визначання кольору

Колір визначають згідно з розділом 3 ГОСТ 29188.0.

9.6.3. Визначання запаху

Запах визначають згідно з розділом 3 ГОСТ 29188.0.

9.6.4. Визначання масової частки води та летких речовин

Масову частку води та летких речовин визначають згідно з ГОСТ 29188.4.

9.6.5. Визначання водневого показника (рН)

Водневий показник (рН) визначають згідно з ГОСТ 29188.2 у розчині із масовою часткою косметичного крему 10 %.

9.6.6. Визначання колоїдної стабільності

Колоїдну стабільність визначають згідно з ГОСТ 29188.3.

9.6.7. Визначання термостабільності

Термостабільність визначають згідно з ГОСТ 29188.3.

9.6.8. Визначання температури краплепадіння

Температуру краплепадіння визначають згідно з ГОСТ 29188.1.

9.6.9. Визначання мікробіологічних показників

Методи полягають у висіванні розчину наважок відібраної проби косметичного крему в живильні середовища з подальшим культивуванням посівів в умовах, сприятливих для росту мікроорганізмів.

9.6.9.1. Апаратура, реактиви, матеріали

Ваги лабораторні згідно з ГОСТ 24104 4-го класу точності з найбільшою межею зважування

200 г і границею допустимої похибки не більше ніж 15 мг.

Машина для виготовлення ватних пробок.

Вата медична гігроскопічна згідно з ГОСТ 5556.

Марля медична згідно з ГОСТ 9412.

Пінцети медичні згідно з ГОСТ 21241.

Спиртівка СЛ-1 або СЛ-2 згідно з ГОСТ 25336.

Колби П-1(2)—50—29/32 ТХС, П-1(2)—100—29/32 ТХС, П-1(2)—250—29/32 ТХС згідно з ГОСТ 25336.

Спирт етиловий ректифікований згідно з ДСТУ 4221.

9.6.9.2. Відбирання проб

Відбирають проби згідно з ГОСТ 29188.0 із таким доповненням.

Проби для визначання мікробіологічних показників відбирають перед відбиранням проб для визначання органолептичних і фізико-хімічних показників із дотриманням правил асептики для того, щоб уникнути вторинного мікробного забруднення косметичного крему.

Проба, відібрана від окремої одиниці пакування, є точковою. Точкові проби з'єднують, перемішують і складають усереднену сукупну пробу, яка складається із рівних точкових проб. Таку саму кількість пакування використовують і для повторного випробовування. Якщо маса (об'єм) косметичного крему в пакуванні менше ніж 5 г (см³), вміст випробовують повністю або використовують більшу кількість пакувань.

Усереднену сукупну пробу відбирають із спожиткової тари з непошкодженим пакуванням, яке не зазнавало зовнішнього впливу. У разі пошкодженого пакування про це обов'язково зазначають у протоколі.

Перед розкриттям спожиткової тари місце з'єднання кришки (ковпачка) із тарою протирають тампоном, змоченим етиловим ректифікованим спиртом.

Проби відбирають у боксі поблизу полум'я пальника стерильним пінцетом у стерильну колбу із широким горлом місткістю від 100 см³ до 200 см³ і закупорюють ватно-марлевым тампоном.

Першу порцію кількістю 10 % вмісту тари відбирають у окремий посуд і викидають.

9.6.9.3. Випробовування

Визначання кількості мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів — згідно з ДСТУ 3438 (ГОСТ 30468).

Визначання бактерій *Enterobactereaceae* — згідно з ДСТУ 3034 (ГОСТ 30282).

Визначання *Staphylococcus aureus* — згідно з ДСТУ 3031 (ГОСТ 30279).

Визначання *Pseudomonas aeruginosa* — згідно з ДСТУ 3033 (ГОСТ 30281).

Визначання кількості дріжджів і пліснявих грибів — згідно з ДСТУ 3032 (ГОСТ 30280).

9.6.10. Правильність пакування і маркування на відповідність вимогам цього стандарту контролюють візуально.

9.7. Транспортування та зберігання.

Транспортування та зберігання косметичного крему має відповідати вимогам ГОСТ 27429 (для крему рідкої консистенції) та ГОСТ 28303 (для крему густої консистенції).

9.8. Гарантії виробника.

Виробник гарантує відповідність якості косметичного крему вимогам цього стандарту в разі дотримання споживачем наведених у розділі 2.7 умов транспортування та зберігання.

Термін придатності косметичного крему визначає виробник за погодженням із центральним органом виконавчої влади у сфері охорони здоров'я України.

Додатки.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. ДСанПіН 2.2.9.027–99 Державні санітарні правила і норми безпеки продукції парфумернокосметичної промисловості, затверджені постановою Головного державного санітарного лікаря України від 01.07.1999 р., № 27

2. СНиП 41-01–2003 Санитарные нормы и правила. Отопление, вентиляция и кондиционирование (Санітарні норми і правила. Опалювання, вентиляція та кондиціонування), затверджені постановою Держбуду Росії від 26.06.2003 р., № 115

3. НАПБ А.01.001–04 Правила пожежної безпеки в Україні, затверджені наказом МНС України від 19.10.2004 р., № 126; зареєстровано в Мін'юсті України 4.11.2004 р. за № 1410/10009

4. ДСП 201–97 Державні санітарні правила охорони атмосферного повітря населених місць від забруднення хімічними і біологічними речовинами, затверджені наказом МОЗ України від 09.07.1997 р., № 201

5. СанПиН 42-128-4690–88 Санитарные правила содержания территорий населенных мест (Санітарні правила утримання територій населених місць), затверджені наказом МОЗ СРСР від 05.08.1988 р., № 4690

6. ДСанПіН 2.2.7.029–99 Гігієнічні вимоги щодо поводження з промисловими відходами та визначення їх класу небезпеки для здоров'я населення, затверджені постановою Головного державного санітарного лікаря України від 01.07.1999 р., № 29

7. СанПиН 4630–88 Санитарные правила и нормы охраны поверхностных вод от загрязнения (Санітарні правила і норми охорони

поверхневих вод від забруднення), затверджені наказом МОЗ СРСР від 04.07.1988 р., № 4630.

Нормативні посилання.

У цьому проекті технічних умов є посилання на такі нормативні документи:

ДСТУ 2472:2006 Продукція парфумерно-косметична. Терміни та визначення понять

ДСТУ 3031–95 (ГОСТ 30279–95) Шампуні та піномийні засоби. Мікробне забруднення. Метод виявлення *Staphylococcus aureus*

ДСТУ 3032–95 (ГОСТ 30280–95) Шампуні та піномийні засоби. Метод обліку вмісту дріжджів і виявлення *Candida albicans*

ДСТУ 3033–95 (ГОСТ 30281–95) Шампуні та піномийні засоби. Мікробне забруднення. Метод виявлення *Pseudomonas aeruginosa*

ДСТУ 3034–95 (ГОСТ 30282–95) Шампуні та піномийні засоби. Мікробне забруднення. Метод виявлення бактерій *Escherichia coli*

ДСТУ 3438–96 (ГОСТ 30468–97) Шампуні та піномийні засоби. Метод визначення загальної забрудненості мікроорганізмами

ДСТУ 4221:2003 Спирт етиловий ректифікований. Технічні умови

ГОСТ 12.1.004–91 ССБТ. Пожарная безопасность. Общие требования (ССБП. Пожежна безпека. Загальні вимоги)

ГОСТ 12.1.005–88 ССБТ. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны (ССБП. Загальні санітарно-гігієнічні вимоги до повітря робочої зони)

ГОСТ 12.2.003–91 ССБТ. Оборудование производственное. Общие требования безопасности (ССБП. Устаткування виробниче. Загальні вимоги щодо безпеки)

ГОСТ 12.3.002–75 (СТ. СЭВ 1728–79) ССБТ. Процессы производственные. Общие требования безопасности (ССБП. Процеси виробничі. Загальні вимоги щодо безпеки)

ГОСТ 12.4.013–85 ССБТ. Очки защитные. Общие технические условия (ССБП. Окуляри захисні. Загальні технічні умови)

ГОСТ 12.4.021–75 ССБТ. Системы вентиляционные. Общие требования (ССБП. Системи вентиляційні. Загальні вимоги)

ГОСТ 12.4.028–76 ССБТ. Респираторы ШБ-1 «Лепесток». Технические условия (ССБП. Респіратори ШБ-1 «Лепесток». Технічні умови)

ГОСТ 12.4.131–83 Халаты женские. Технические условия (Халати жіночі. Технічні умови)

ГОСТ 12.4.132–83 Халаты мужские. Технические условия (Халати чоловічі. Технічні умови)

ГОСТ 2874–82 Вода питьевая. Гигиенические требования и контроль за качеством (Вода питна. Гігієнічні вимоги і контролювання якості)

ГОСТ 5556–81 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия (Вата медичнагігроскопічна. Технічні умови)

ГОСТ 9412–93 Марля медицинская. Общие технические условия (Марля медична. Загальні технічні умови)

ГОСТ 20010–93 Перчатки резиновые технические. Технические условия (Рукавички гумові технічні. Технічні умови)

ГОСТ 21241–89 Пинцеты медицинские. Общие технические требования и методы испытаний (Пінцети медичні. Загальні технічні вимоги і методи випробовування)

ГОСТ 24104–88 Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия (Ваги лабораторні загальної призначеності та зразкові. Загальні технічні умови)

ГОСТ 25336–82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры (Посуд та устаткування лабораторні скляні. Типи, основні параметри та розміри)

ГОСТ 27429–87 Изделия парфюмерно-косметические жидкие. Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение (Вироби парфюмерно-косметичні рідкі. Пакування, маркування, транспортування та зберігання)

ГОСТ 28303–89 Изделия косметические. Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение (Вироби косметичні. Пакування, маркування, транспортування та зберігання)

ГОСТ 29188.0–91 Изделия парфюмерно-косметические. Правила приемки, отбор проб, методы органолептических испытаний (Вироби парфюмерно-косметичні. Правила приймання, відбирання проб, методи органолептичного випробовування)

ГОСТ 29188.1–91 Изделия косметические. Метод определения температуры каплепадения(Вироби косметичні. Метод визначання температури краплепадіння)

ГОСТ 29188.2–91 Изделия косметические. Метод определения водородного показателя рН(Вироби косметичні. Метод визначання водневого показника рН)

ГОСТ 29188.3–91 Изделия косметические. Метод определения стабильности эмульсии (Вироби косметичні. Метод визначання стабільності емульсії)

ГОСТ 29188.4–91 Изделия косметические. Метод определения воды и летучих веществ илисухого вещества (Вироби косметичні. Метод визначання води і летких речовин або сухої речовини).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Monciardini P., Iorio M., Maffioli S., Sosio M., Donadio S. Discovering new bioactive molecules from microbial sources. *Microb. Biotechnol.* 2014; 7: 209–220.
2. Fenibo E.O., Ijoma G.N., Selvarajan R., Chikere C.B. Microbial surfactants: The next generation multifunctional biomolecules for applications in the petroleum industry and its associated environmental remediation. *Microorganisms.* 2019; 7: 581.
3. Ceresa C., Fracchia L., Fedeli E., Porta C., Banat I.M. Recent Advances in Biomedical, Therapeutic and Pharmaceutical Applications of Microbial Surfactants. *Pharmaceutics.* 2021; 13: 466.
4. Vecino X., Barbosa-Pereira L., Devesa-Rey R., Cruz J.M., Moldes A.B. Optimization of liquid-liquid extraction of biosurfactants from corn steep liquor. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 2015; 38: 1629–1637.
5. Naughton P.J., Marchant R., Naughton V., Banat I.M. Microbial biosurfactants: Current trends and applications in agricultural and biomedical industries. *J. Appl. Microbiol.* 2019; 127: 12–28.
6. Singh P., Patil Y., Rale V. Biosurfactant Production: Emerging Trends and Promising Strategies. *Journal of Applied Microbiology.* 2018, 126: 2-13 doi:10.1111/jam.14057
7. De Giani A., Zampolli J., Di Gennaro P. Recent Trends on Biosurfactants With Antimicrobial Activity Produced by Bacteria Associated With Human Health: Different Perspectives on Their Properties, Challenges, and Potential Applications. *Front. Microbiol.* 2021, 12: 655150. doi: 10.3389/fmicb.2021.655150
8. Md, F. Biosurfactant: Production and Application. *Journal of Petroleum & Environmental Biotechnology.* 2012, 03(04). doi:10.4172/2157-7463.1000124

9. Sekhon Randhawa K. K., Rahman P. K. S. M. Rhamnolipid biosurfactantsâ past, present, and future scenario of global market. *Frontiers in Microbiology*. 2014, 5. doi:10.3389/fmicb.2014.00454
10. Hamley I. W. Lipopeptides: from self-assembly to bioactivity. *Chemical Communications*. 2015, 51(41): 8574–8583. doi:10.1039/c5cc01535a
11. Banat I. M., De Rienzo M. A. D. Microbial biofilms: biosurfactants as antibiofilm agents. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2014, 98(24): 9915–9929. doi: 10.1007/s00253-014-6169-6
12. Sen S., Borah S. N., Kandimalla R. Efficacy of a rhamnolipid biosurfactant to inhibit *Trichophyton rubrum* in vitro and in a mice model of dermatophytosis. *Experimental Dermatology*. 2019, 28(5): 601–608. doi:10.1111/exd.13921
13. Borah S. N., Sen S., Goswami L. Rice based distillers dried grains with solubles as a low cost substrate for the production of a novel rhamnolipid biosurfactant having anti-biofilm activity against *Candida tropicalis*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2019, 182: 110358. doi:10.1016/j.colsurfb.2019.110358
14. Sen S., Borah S. N., Bora A. Rhamnolipid exhibits anti-biofilm activity against the dermatophytic fungi *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes*. *Biotechnology Reports*. 2020, 27: e00516. doi: 10.1016/j.btre.2020.e00516
15. Zhao F., Han S., Zhang Y. Comparative studies on the structural composition, surface/interface activity and application potential of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* using hydrophobic or hydrophilic substrates. *Bioresource Technology*. 2020, 295: 122269. doi: 10.1016/j.biortech.2019.122269
16. Sanjivkumar M., Deivakumari M., Immanuel G. Investigation on spectral and biomedical characterization of rhamnolipid from a marine associated bacterium *Pseudomonas aeruginosa* (DKB1). *Archives of Microbiology*. 2021, 203(5): 2297–2314. doi:10.1007/s00203-021-02220-x

17. Sabarinathan D., Vanaraj S., Sathiskumar S. Characterization and application of rhamnolipid from *Pseudomonas plecoglossicida* BP03. *Letters in Applied Microbiology*. 2020, 72(3): 251–262. doi: 10.1111/lam.13403
18. Ceresa C., Tessarolo F., Maniglio D. Medical-Grade Silicone Coated with Rhamnolipid R89 Is Effective against *Staphylococcus* spp. Biofilms. *Molecules*. 2019, 24(21): 3843. doi:10.3390/molecules24213843
19. Mouafo H. T., Mbawala A., Somashekar D. Biological properties and structural characterization of a novel rhamnolipid like-biosurfactants produced by *Lactobacillus casei subsp. casei* TM1B. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2020. doi:10.1002/bab.1966
20. Gaur V. K., Tripathi V., Gupta P. Rhamnolipids from *Planococcus* spp. and their mechanism of action against pathogenic bacteria. *Bioresource Technology*. 2020: 123206. doi: 10.1016/j.biortech.2020.123206
21. Borsanyiova M., Patil A., Mukherji R., Prabhune A. Biological activity of sophorolipids and their possible use as antiviral agents. *Folia Microbiologica*. 2015, 61(1): 85–89. doi:10.1007/s12223-015-0413-z
22. Gaur V. K., Regar R. K., Dhiman N. Biosynthesis and characterization of sophorolipid biosurfactant by *Candida* spp.: Application as food emulsifier and antibacterial agent. *Bioresource Technology*. 2019: 121314. doi:10.1016/j.biortech.2019.121314
23. Sen S., Borah S. N., Kandimalla R. Sophorolipid Biosurfactant Can Control Cutaneous Dermatophytosis Caused by *Trichophyton mentagrophytes*. *Frontiers in Microbiology*. 2020, 11. doi:10.3389/fmicb.2020.00329
24. Leyton A., Araya M., Tala F. *Macrocystis pyrifera* Extract Residual as Nutrient Source for the Production of Sophorolipids Compounds by Marine Yeast *Rhodotorula rubra*. *Molecules*. 2021; 26(8): 2355. doi: 10.3390/molecules26082355
25. Kumari A., Kumari S., Prasad G. S. Production of Sophorolipid Biosurfactant by Insect Derived Novel Yeast *Metschnikowia churdharensis f.a., sp.*

nov., and Its Antifungal Activity Against Plant and Human Pathogens. *Front Microbiol.* 2021; 12: 678668. doi: 10.3389/fmicb.2021.678668

26. Abhyankar I., Sevi G., Prabhune A. A. Myristic Acid Derived Sophorolipid: Efficient Synthesis and Enhanced Antibacterial Activity. *ACS Omega.* 2021, 6(2): 1273–1279. doi:10.1021/acsomega.0c04683

27. Clercq V., Roelants S., Castelein M. G. Elucidation of the Natural Function of Sophorolipids Produced by *Starmerella bombicola*. *J Fungi (Basel).* 2021; 7(11): 917. doi: 10.3390/jof7110917

28. Meena K. R., Kanwar S. S. Lipopeptides as the Antifungal and Antibacterial Agents: Applications in Food Safety and Therapeutics. *BioMed Research International.* 2015, 1–9. doi:10.1155/2015/473050

29. Horng Y.-B., Yu Y.-H., Dybus A. Antibacterial activity of *Bacillus* species-derived surfactin on *Brachyspira hyodysenteriae* and *Clostridium perfringens*. *AMB Express.* 2019, 9(1). doi:10.1186/s13568-019-0914-2

30. Krishnan N., Velramar B. Investigation of antifungal activity of surfactin against mycotoxigenic phytopathogenic fungus *Fusarium moniliforme* and its impact in seed germination and mycotoxicosis. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 2019. doi:10.1016/j.pestbp.2019.01.010

31. Lv J., Da R., Cheng Y. Mechanism of Antibacterial Activity of *Bacillus amyloliquefaciens* C-1 Lipopeptide toward Anaerobic *Clostridium difficile*. *BioMed Research International.* 2020, 1–12. doi:10.1155/2020/3104613

32. Abdelli F., Jardak M., Elloumi J. Antibacterial, anti-adherent and cytotoxic activities of surfactin(s) from a lipolytic strain *Bacillus safensis* F4. *Biodegradation.* 2019. doi:10.1007/s10532-018-09865-4

33. Giri S. S., Ryu E., Sukumaran V. Antioxidant, antibacterial, and anti-adhesive activities of biosurfactants isolated from *Bacillus* strains. *Microbial Pathogenesis.* 2019, 132: 66-72. doi: 10.1016/j.micpath.2019.04.035

34. Clements T., Ndlovu T., Khan W. Broad-spectrum antimicrobial activity of secondary metabolites produced by *Serratia marcescens* strains. *Microbiological Research.* 2019, 229: 126329. doi: 10.1016/j.micres.2019.126329

35. Zampolli J., De Giani A., Di Canito A. Identification of a Novel Biosurfactant with Antimicrobial Activity Produced by *Rhodococcus opacus* R7. *Microorganisms*. 2022, 10(2): 475. doi: 10.3390/microorganisms10020475.
36. Tambone E., Bonomi E., Ghensi P., Maniglio D. Rhamnolipid coating reduces microbial biofilm formation on titanium implants: an in vitro study. *BMC Oral Health*. 2021, 21(1): 49. doi: 10.1186/s12903-021-01412-7.
37. Ceresa C., Fracchia L., Williams M., Banat I. M. The effect of sophorolipids against microbial biofilms on medical-grade silicone. *Journal of Biotechnology*. 2020, 309: 34–43. doi: 10.1016/j.jbiotec.2019.12.019
38. Alfian A. R., Watchaputi K., Sooklim C., Soontorngun N. Production of new antimicrobial palm oil-derived sophorolipids by the yeast *Starmerella riodecensis* sp. nov. against *Candida albicans* hyphal and biofilm formation. *Microb Cell Fact*. 2022, 21(1): 163. doi: 10.1186/s12934-022-01852-y.
39. Mendes R.M., Francisco A.P., Carvalho F.A. Fighting *S. aureus* catheter-related infections with sophorolipids: Electing an antiadhesive strategy or a release one? *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2021, 208: 112057. doi:10.1016/j.colsurfb.2021.112057
40. Liu S., Xu N., Liu H. Genome characterization of *Pseudomonas aeruginosa* KT1115, a high di-rhamnolipid-producing strain with strong oils metabolizing ability. *Current Microbiology*. 2020, 77, 1890-1895. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02009-z>
41. Nahas H. H. A., Kibar G., Elkot H. A., Abdel-Azeem A. M. Rhamnolipid Biosurfactants Production and Applications. *Microbial Surfactants*. 2022, 2, 21.
42. Nawrath M. M., Ottenheim C., Wu J. C., Zimmermann W. *Pantoea* sp. P37 as a novel nonpathogenic host for the heterologous production of rhamnolipids. *Microbiology Open*. 2020, 9(5), e1019. doi: 10.1002/mbo3.1019
43. Bator I., Karmainski T., Tiso T. Killing two birds with one stone—strain engineering facilitates the development of a unique rhamnolipid production process. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020, 8, 899. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00899>

44. Sivapuratharasan V., Lenzen C., Michel C., Muthukrishnan A. B. Metabolic engineering of *Pseudomonas taiwanensis* VLB120 for rhamnolipid biosynthesis from biomass-derived aromatics. *Metabolic Engineering Communications*. 2022, 15, e00202. <https://doi.org/10.1016/j.mec.2022.e00202>
45. Pérez-Armendáriz B., Cal-y-Mayor-Luna C., El-Kassis E. G. Use of waste canola oil as a low-cost substrate for rhamnolipid production using *Pseudomonas aeruginosa*. *AMB Express*. 2019, 9(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0784-7>
46. Pathania A. S., Jana A. K. Utilization of waste frying oil for rhamnolipid production by indigenous *Pseudomonas aeruginosa*: Improvement through co-substrate optimization. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2020, 8(5), 104304. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104304>
47. Tiso T., Ihling N., Kubicki S., Biselli A., Schonhoff A. Integration of genetic and process engineering for optimized rhamnolipid production using *Pseudomonas putida*. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. 2020, 8, 976. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00976>
48. Samadi S., Amani H., Najafpour G. D., Kariminezhad H., Banaei A. Investigating the potential of rhamnolipid as an eco-friendly surfactant for environmental protection in oil spill clean-up. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2023, 1-16. <https://doi.org/10.1007/s13762-023-04973-y>
49. Pal S., Chatterjee N., Das A. K., McClements D. J. Sophorolipids: A comprehensive review on properties and applications. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2023, 102856.
50. Jezierska S., Claus S., Van Bogaert I. Yeast glycolipid biosurfactants. *Febs Letters*. 2018, 592(8), 1312-1329. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12888>
51. Yang L., Li Y., Zhang X. Metabolic profiling and flux distributions reveal a key role of acetyl-CoA in sophorolipid synthesis by *Candida bombicola*. *Biochemical Engineering Journal*. 2019, 145, 74-82. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.02.013>

52. Li Y., Chen Y., Tian X., Chu J. Advances in sophorolipid-producing strain performance improvement and fermentation optimization technology. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2020, 104, 10325-10337. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10964-7>

53. Liu J., Zhang X., Liu G. A Cumulative Effect by Multiple-Gene Knockout Strategy Leads to a Significant Increase in the Production of Sophorolipids in *Starmerella Bombicola* CGMCC 1576. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022, 10, 818445. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.818445>

54. Li S., Qian X., Xu L., Xu N., Liu S. Biological tailoring of novel sophorolipid molecules and their derivatives. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. 2021, 15(6), 1938-1949. <https://doi.org/10.1002/bbb.2279>

55. Zhang S., Chen Y., Zhu J., Lu Q. Structural diversity, biosynthesis, and biological functions of lipopeptides from *Streptomyces*. *Natural Product Reports*. 2023, 40(3), 557-594. doi: 10.1039/x0xx00000x

56. Clements T., Ndlovu T., Khan S., Khan W. Biosurfactants produced by *Serratia* species: Classification, biosynthesis, production and application. *Applied microbiology and biotechnology*. 2019, 103, 589-602. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9520-5>

57. Zhengjie H. O. U., Huizhong S. U. N., Song B. A. I. Research progress of cyclic lipopeptide biosynthesis. *Synthetic Biology Journal*. 2021, 2(4), 577. doi: 10.12211/2096-8280.2021-008

58. Jimoh A. A., Senbadejo T. Y., Adeleke R., Lin J. Development and genetic engineering of hyper-producing microbial strains for improved synthesis of biosurfactants. *Molecular Biotechnology*. 2021, 63, 267-288. <https://doi.org/10.1007/s12033-021-00302-1>

59. Xia T. Y., Chen X. A., Liu Y. Q., Scharf D. H., Zhao Q. W., Li Y. Q. Redirection of acyl donor metabolic flux for lipopeptide A40926B0 biosynthesis. *Microbial Biotechnology*. 2022, 15(6), 1852-1866. doi:10.1111/1751-7915.14021

60. Pathania A. S., Jana A. K., Jana M. M. Valorization of waste frying oil to lipopeptide biosurfactant by indigenous *Bacillus licheniformis* through co-

utilization in mixed substrate fermentation. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 2021, 1-17. <https://doi.org/10.1007/s43153-021-00170-x>

61. Pat. US 2014.0024816A1 United States. Sophorolipid analog compositions / Richard A. G., Mark H. S. Publ. 23.01.2014

62. Vaughn S. F., Behle R. W., Skory C. D. Utilization of sophorolipids as biosurfactants for postemergence herbicides. *Crop Protection*. 2014, 59: 29–34. doi:10.1016/j.cropro.2014.01.014

63. Develter D. W. G., Laurysen L. M. L. Properties and industrial applications of sophorolipids. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2010, 112(6): 628–638. doi:10.1002/ejlt.200900153

64. Vasudevan S., Prabhune A. A. Photophysical studies on curcumin-sophorolipid nanostructures: applications in quorum quenching and imaging. *Royal Society Open Science*. 2018, 5(2), 170865. doi:10.1098/rsos.170865

65. Pat. US20090186836A1 United States. Method for neutralizing fungi using sophorolipids and antifungal sophorolipids for use therein / Richard A. G., Vishal S. Publ. 23.07.2009

66. Haque F., Sajid M., Cameotra S. S. Anti-biofilm activity of a sophorolipid-amphotericin B niosomal formulation against *Candida albicans*. *Biofouling*. 2017, 33(9): 768–779. doi:10.1080/08927014.2017.1363191

67. Olanya O. M., Ukuku D. O., Solaiman D. K. Y., Ashby R. D. Reduction in *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157:H7 in vitro and on tomato by sophorolipid and sanitiser as affected by temperature and storage time. *International Journal of Food Science & Technology*. 2017, 53(5): 1303–1315. doi:10.1111/ijfs.13711

68. Pat. WO2017117049A1. Compositions containing a bitter tastant and at least one sophorolipid, and methods of reducing bitter taste attributed to a bitter tastant in an edible composition / Solaiman D., Richard D. Publ. 23.12.2016

69. Mnif I., Ghribi D. Glycolipid biosurfactants: main properties and potential applications in agriculture and food industry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2016, 96(13): 4310–4320. doi:10.1002/jsfa.7759

70. de Oliveira M. R., Magri A. Review: Sophorolipids A Promising Biosurfactant and its Applications. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research(IJBR)*. 2015, 6(2): 161-174
71. Imura T., Morita T., Fukuoka T. Spontaneous Vesicle Formation from Sodium Salt of Acidic Sophorolipid and Its Application as a Skin Penetration Enhancer. *Journal of Oleo Science*. 2014, 63(2): 141–147. doi:10.5650/jos.ess13117
72. Hirata Y., Ryu M., Igarashi K. Natural Synergism of Acid and Lactone Type Mixed Sophorolipids in Interfacial Activities and Cytotoxicities. *Journal of Oleo Science*. 2009, 58(11): 565–572. doi:10.5650/jos.58.565
73. Solaiman D. K. Y., Ashby R. D., Zerkowski J. A. Control-release of antimicrobial sophorolipid employing different biopolymer matrices. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2015, 4(3): 342–348. doi:10.1016/j.bcab.2015.06.006
74. Thiboutot D., Gollnick H., Bettoli V. New insights into the management of acne: An update from the Global Alliance to Improve Outcomes in Acne Group. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2009, 60(5): S1–S50. doi:10.1016/j.jaad.2009.01.019
75. Kim K., Yoo D. Characteristics of sophorolipid as an antimicrobial agent. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2002, 12(2): 235-241.
76. Bazsefidpar S., Mokhtarani B., Panahi R. Overproduction of rhamnolipid by fed-batch cultivation of *Pseudomonas aeruginosa* in a lab-scale fermenter under tight DO control. *Biodegradation*. 2019. doi:10.1007/s10532-018-09866-3
77. He N., Wu T., Jiang J. Toward high-efficiency production of biosurfactant rhamnolipids using sequential fed-batch fermentation based on a fill-and-draw strategy. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2017, 157: 317–324. doi:10.1016/j.colsurfb.2017.06.007
78. Kim J.-H., Oh Y.-R., Hwang J. Value-added conversion of biodiesel into the versatile biosurfactant sophorolipid using *Starmerella bombicola*. *Cleaner Engineering and Technology*. 2020, 1: 100027. doi:10.1016/j.clet.2020.100027

79. Lodens S., Roelants S.L.K.W., Ciesielska K. Unravelling and resolving inefficient glucolipid biosurfactants production through quantitative multi -omics analyses of *Starmerella bombicola* strains. *Biotechnology and Bioengineering*. 2019ю doi:10.1002/bit.27191

80. Kim J.-H., Oh Y.-R., Hwang J. Valorization of waste-cooking oil into sophorolipids and application of their methyl hydroxyl branched fatty acid derivatives to produce engineering bioplastics. *Waste Management*. 2021, 124: 195–202. doi:10.1016/j.wasman.2021.02.003

81. Govender R., Abrahmsén-Alami .S, Larsson A., Borde A., Liljeblad A., Folestad S. Independent Tailoring of Dose and Drug Release via a Modularized Product Design Concept for Mass Customization. *Pharmaceutics*. 2020; 12(8):771.

82. Glassman P.M., Muzykantov V.R. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of Drug Delivery Systems. *J Pharmacol Exp Ther*. 2019; 370(3):570-580.

83. Препарати від вугрової висипки і акне [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.add.ua/ua/medicamenti/dermatologicheskie/ugrevaya-syp-akne/>

84. Лич І.В. Промислова технологія лікарських засобів [Електронний ресурс]:конспект лекцій для студ. освітнього ступеня бакалавр спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» ден. та заоч. форм навч. / І.В. Лич. – К.: НУХТ, 2017. – 323 с.

85. Filipe G.A., Bigotto B.G., Baldo C., Gonçalves M.C., et al. Development of a multifunctional and self-preserving cosmetic formulation using sophorolipids and palmarosa essential oil against acne-causing bacteria. *J Appl Microbiol*. 2022; 133(3):1534-1542.

86. Fontoura I.C.C., Saikawa G.I.A., Silveira V.A.I., Pan N.C., Amador I.R., Baldo C. et al. Antibacterial activity of sophorolipids from candida bombicola against human pathogens. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2020; 63, e20180568.

87. Acrylamide/sodium acryloyldimethyltaurate copolymer [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://safetymakeup.com.ua/ingredients/acrylamide-sodium_acryloyldimethyltaurate_copolymer
88. Крем для жирної шкіри лица с лецитином + морские водоросли 3% Sane [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://glow.ua/index.php?route=product/product&path=61&product_id=159
89. Гліцерин: застосування, користь і шкода [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://bhub.com.ua/uk/glitseryn-zastosuvannya-koryst-i-shkoda/>
90. Феноксietанол [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://lekostyle.ua/catalog/fenoksietanol.html>
91. Метилізотіазолінон у косметиці [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://lekostyle.ua/catalog/fenoksietanol.html>
92. Ефірна олія пальмарози: властивості, склад, способи застосування, відгуки [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ideas-center.com.ua/?p=13553>
93. What is primary packaging in pharmaceutical? [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.international-development.eu/what-is-primary-packaging-in-pharmaceutical/#:~:text=It%20helps%20protect%20patients%20and,the%20drug%20or%20other%20product.>
94. Фасування та упаковка мазей [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://ztl.nuph.edu.ua/medication/chapter18_07.html
95. Сучасні мазі [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://revolution.allbest.ru/medicine/00535375_1.html
96. Фармацевтическая упаковка — алюминиевые тубы [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://gxpnews.net/2010/01/farmaceuticheskaya-upakovka-alyuminievye-tuby/>
97. Фармацевтична упаковка [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ubi-pack.com/upakovka-dlya-farmatsevtiki-uk/>

98. Pratap A. P., Mestri R. S. Waste derived-green and sustainable production of Sophorolipid. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*. 2021, 4: 100209. doi: 10.1016/j.crgsc.2021.100209

99. Daverey A., Pakshirajan K. Sophorolipids from *Candida bombicola* using mixed hydrophilic substrates: Production, purification and characterization. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2010, 79(1): 246–253. doi:10.1016/j.colsurfb.2010.04.002

100. Pat. WO2022234966A1WIPO (PCT). Method for purifying sophorolipid / 김무성이상린김경철. Publ. 10.11.2022

101. Pat. KR20210068195A South Korea. Purification method of lactonic sophorolipid / 김무성이상린김경철신민규. Publ. 21.03.2022

102. Kim J.-H., Oh Y.-R., Hwang J. Valorization of waste-cooking oil into sophorolipids and application of their methyl hydroxyl branched fatty acid derivatives to produce engineering bioplastics. *Waste Management*. 2021, 124: 195–202. doi:10.1016/j.wasman.2021.02.003

103. Ізопропіловий спирт ХЧ (ізопропанол ІПС) 99.9% 5 л [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://sata-group.com.ua/ua/p976823022-izopropilovyj-spirit-hch.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAjwg-GjBhBnEiwAMUvNW1nTyakMScV9U4k9hJzPjSuqCzMllgC8tte5QVd8Uc3o3WVaCVFJUhoCK2gQAvD_BwE

104. Етилацетат Klebrig 20л [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://klebrig.com.ua/ua/p1836542743-etilatsetat-klebrig-20l.html?source=merchant_center&utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=Perf_Max-Turboweb&gclid=CjwKCAjwg-GjBhBnEiwAMUvNW1WOorvRiNlk15wCdnAZQxSv61BHNSrpnOhv1iAFa-9yc66PgB6EPxoCw9cQAvD_BwE

105. Ribeiro I. A. C., Bronze M. R. Selective recovery of acidic and lactonic sophorolipids from culture broths towards the improvement of their therapeutic

potential. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2016, 39(12): 1825–1837. doi:10.1007/s00449-016-1657-y

106. AmberLite™ XAD™1600N Polymeric Adsorbent [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.lenntech.com/Data-sheets/DuPont-Amberlite-XAD-1600N-Polymeric-Adsorbent-L.pdf>

107. Державна Фармакопея України/Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEГ, 2001. - 556 с.

108. Kim J.-H., Oh Y.-R., Hwang J. Value-added conversion of biodiesel into the versatile biosurfactant sophorolipid using *Starmerella bombicola*. *Cleaner Engineering and Technology*. 2020, 1: 100027. doi:10.1016/j.clet.2020.100027

109. Pat. CN111202739A. Application of sophorolipid in preparing medicine for resisting propionibacterium acnes and biomembrane thereof / 宋欣, 赵国芹. Publ. 29.05.2020

110. Reinforced Clostridial Broth [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.sigmaaldrich.cn/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/353/950/r1023dat.pdf>

111. ДСТУ 4765:2007. Креми косметичні. Загальні технічні умови. На заміну ГОСТ 29189–91; чинний від 2007-04-28. Вид. офіц. Київ: Держ. підприємство «Укр. н.-д. і навч. центр проблем стандартизації, сертифікації та якості» (ДП «УкрНДНЦ»), 2008. 12 с.

112. ГОСТ 29188.0-2014. Продукция парфюмерно-косметическая. Правила приемки, отбор проб, методы органолептических испытаний.

113. Сенсорний та фізико-хімічний аналіз харчових добавок і косметичних засобів [Електронний ресурс] : конспект лекцій для здобувачів освітнього ступеня “Бакалавр” спеціальності 161 “Хімічні технології та інженерія” освітньо-професійної програми “Хімічна технологія” денної та заочної форм навчання / С. О. Ковальова, Н. І. Сабадаш, О. Г. Макаренко, І.

В. Фесич ; Національний університет харчових технологій. – Київ : НУХТ, 2021. – 160 с.

114. Ковальова Т.М., Половко Н.П. Фізико-хімічне та реологічне дослідження емульсійних основ з комплексним емульгатором Olivem 1000. *Актуальні проблеми фармації та фармакотерапії*. 2015. № 2. С. 222-229.