

**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)

(підпис) Наталія ГРЕГІРЧАК
(прізвище та ініціали)
«__» _____ лютого 2024 р.

«До захисту допущено»
Завідувач кафедри

(підпис) Віктор СТАБНІКОВ
(прізвище та ініціали)
«__» _____ лютого 2024 р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА**

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

освітньо-професійної програми «Фармацевтична біотехнологія»

на тему: Роль мікробних екзополісахаридів у біосинтезі наночастинок з
антимікробною активністю

Виконав: здобувач 2 курсу, групи 2

КАЧКІВСЬКА Марина Олександрівна
(прізвище, ім'я та 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)

Рецензент Катерина ПОКОЙОВЕЦЬ
(прізвище та ініціали) _____
(підпис)

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

Здобувач _____
(підпис)

Київ – 2024 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь магістр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Фармацевтична біотехнологія»
(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і
мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“ 30 ” жовтня 2023 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

КАЧКІВСЬКА Марина Олександрівна

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Роль мікробних екзополісахаридів у біосинтезі наночасток з антимікробною активністю

керівник роботи ПИРОГ Тетяна Павлівна, проф., д.б.н.

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від 06 листопада 2023 року № 914-кС

2. Строк подання здобувачем роботи 05.02.2024

3. Вихідні дані до роботи Біологічний агент: *Arthrobacter* sp. В4. Продукт: екзополісахарид. Геометричний об'єм ферментера: 1 м³. Коефіцієнт заповнення: 0,5

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Огляд літератури. Техніко-економічне обґрунтування. Обґрунтування вибору технологічної схеми виділення та очищення екзополісахариду. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків. Специфікація обладнання. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення субстанції. Контроль виробництва субстанції. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання ЛЗ. Специфікація обладнання для отримання гелю з наночастками срібла. Опис технологічної схеми одержання гелю. Опис продукту згідно АНД

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема: 1 аркуш формату А1 та 1 аркуш фармату А3.
Апаратурна 1 аркуш формату А1 та 1 аркуш фармату 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
1.	Огляд літератури	01.11.23-07.11.23	
2.	Техніко-економічне обґрунтування виробництва лікарського засобу	07.11.23-13.11.23	
3.	Обґрунтування вибору технологічної схеми виділення та очищення екзополісахариду для одержання наночастинок срібла	13.11.23-19.11.23	
4.	Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях отримання субстанції	19.11.23-25.11.23	
5.	Специфікація обладнання	25.11.23-01.12.23	
6.	Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення субстанції для одержання ЛЗ	01.12.23-07.12.23	
7.	Контроль виробництва субстанції для лікарського засобу	07.12.23-13.12.23	
8.	Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання лікарського засобу	13.12.23-19.12.23	
9.	Специфікація обладнання для отримання гелю з наночастками срібла	19.12.23-26.12.23	
10.	Опис технологічної схеми одержання гелю з наночастками срібла	26.12.23-01.01.24	
11.	Опис гелю з наночастками срібла згідно АНД	01.01.24-07.01.24	
12.	Графічна частина	07.01.24-14.01.24	
13.	Оформлення роботи та підготовка списку літератури	14.01.24-20.01.24	

Здобувач

_____ (підпис)

Марина КАЧКІВСЬКА

_____ (ім'я та прізвище)

Керівник роботи

_____ (підпис)

Тетяна ПИРОГ

_____ (ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

У даній кваліфікаційній роботі запропоновано одержання наночасток срібла за наявності екзополісахаридів штаму *Arthrobacter sp.* В4. На ринку України представлено препарат Дефлю Захист Ніс – гель по 10 г у тубах. Препарат містить колоїдний розчин срібла у концентрації 45-55 ppm в якості діючої речовини. Дефлю Захист Ніс гель зменшує ризик проникнення інфекцій в організм через слизову оболонку носа, оскільки створює перешкоду для вірусів і бактерій за рахунок речовин, що утворюють гель, а також зміцнює цей бар'єр завдяки противірусної і антибактеріальної активності колоїдного срібла.

Технологічна схема виділення та очищення екзополісахариду включає допоміжні роботи (приготування 5%-го розчину трихлороцтової кислоти та підготовка деіонізованої води) та технологічний процес (центрифугування культуральної рідини, видалення білків з супернатанту (осадження трихлороцтовою кислотою, відділення осаду білків центрифугуванням, ультрафільтрація), виділення екзополісахариду (осадження ЕПС етанолом, відділення осаду ЕПС центрифугуванням, зневоднення осаду ЕПС промивкою чистим етанолом, вакуумне сушіння), очищення екзополісахариду (розчинення ЕПС, фільтрування розчину ЕПС, повторне осадження ЕПС етанолом, відділення осаду ЕПС центрифугуванням, зневоднення осаду ЕПС промивкою чистим етанолом, вакуумне сушіння), подрібнення екзополісахариду та фасування та маркування субстанції екзополісахариду).

Технологічна схема отримання гелю з наночастками срібла для комплексного лікування захворювань носа включає допоміжні роботи (підготовка води очищеної, приготування 1М розчину нітрату срібла, приготування 6% розчину лугу, отримання розчину наночасток срібла за наявності ЕПС штаму *Arthrobacter sp.* В4, приготування розчину допоміжних речовин) та технологічний процес (утворення емульсії наночасток срібла з

олією, отримання гелевої основи, гомогенізація гелю, фасування гелю у туби).

Кваліфікаційна робота складається зі вступу, 11 розділів та списку використаної літератури. В роботі використано 116 літературних джерел, кількість сторінок – 159. Робота містить 12 таблиць, 2 рисунки.

Ключові слова: *Arthrobacter sp.* В4, екзополісахариди, наночастинки, гель, очищення, сушіння, фасування, туби.

ABSTRACT

In this qualification work, it is proposed to obtain silver nanoparticles in the presence of exopolysaccharides of the strain *Arthrobacter* sp. B4. On the market of Ukraine is presented the drug Deflu Zahyst Nis - gel of 10 g in tubes. The drug contains a colloidal solution of silver in a concentration of 45-55 ppm as an active substance. Deflu Protection Nose gel reduces the risk of infections entering the body through the nasal mucosa, as it creates an obstacle for viruses and bacteria due to the substances that make up the gel, and also strengthens this barrier due to the antiviral and antibacterial activity of colloidal silver.

The technological scheme for isolation and purification of exopolysaccharide includes auxiliary works (preparation of a 5% solution of trichloroacetic acid and preparation of deionized water) and a technological process (centrifugation of the culture liquid, removal of proteins from the supernatant (precipitation with trichloroacetic acid, separation of the protein precipitate by centrifugation, ultrafiltration), isolation of exopolysaccharide (EPS sedimentation with ethanol, separation of EPS sediment by centrifugation, dehydration of EPS sediment by washing with pure ethanol, vacuum drying), purification of exopolysaccharide (dissolution of EPS, filtration of EPS solution, re-precipitation of EPS with ethanol, separation of EPS precipitate by centrifugation, dehydration of EPS precipitate by washing with pure ethanol, vacuum drying), crushing of exopolysaccharide and packaging and labeling of exopolysaccharide substance).

The technological scheme of obtaining a gel with silver nanoparticles for the complex treatment of nasal diseases includes auxiliary works (preparation of purified water, preparation of a 1M solution of silver nitrate, preparation of a 6% alkali solution, preparation of a solution of silver nanoparticles in the presence of EPS strain *Arthrobacter* sp. B4, preparation of a solution of auxiliary substances) and the technological process (formation of an emulsion of silver nanoparticles with oil, preparation of the gel base, homogenization of the gel, packing of the gel into tubes).

The qualification work consists of an introduction, 11 chapters and a list of used literature. The work uses 116 literary sources, the number of pages is 159. The work contains 12 tables, 2 figures.

Keywords: *Arthrobacter* sp. B4, exopolysaccharides, nanoparticles, gel, cleaning, drying, packaging, tubes.

ЗМІСТ

ВСТУП	10
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ. ОСОБЛИВОСТІ БІОСИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ ЗА НАЯВНОСТІ МІКРОБНИХ ЕКЗОПОЛІСАХАРИДІВ	13
1.1. Наночастки срібла	14
1.1.1. Утворення наночастинок срібла за участю екзополісахаридів грампозитивних бактерій	14
1.1.2. Синтез наночастинок срібла за участю екзополісахаридів грамнегативних бактерій	16
1.1.3. Екзополісахариди еукаріотичних мікроорганізмів у синтезі наночастинок срібла	17
1.1.4. Практичне застосування наночастинок срібла	26
1.2. Наночастки золота	30
1.2.1. Синтез наночастинок золота за участю екзополісахаридів грампозитивних бактерій	30
1.2.2. Одержання наночастинок золота за участю екзополісахаридів грамнегативних бактерій	32
1.2.3. Використання екзополісахаридів еукаріотичного походження для синтезу наночастинок золота	32
1.2.4. Практичне застосування наночастинок золота	33
1.3. Наночастки інших металів	38
1.3.1. Наночастки цинку та нікелю, синтезовані за участі мікробних екзополісахаридів	38
1.3.2. Наночастки кадмію, утворені за наявності мікробних екзополісахаридів	39
1.3.3. Синтез наночасток заліза за участі мікробних екзополісахаридів ..	39
1.3.4. Практичне застосування наночастинок інших металів	40
РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ	45
2.1. Аналіз фармакологічних властивостей цільового ЛЗ, галузей використання, потреби у ЛЗ (нинішня та враховуючи перспективи)	45
2.2. Обґрунтування вибору форми випуску лікарського засобу	48
2.2.1. Обґрунтування форми випуску гелю для комплексного лікування захворювань носа	48

2.2.2. Обґрунтування вибору первинної і вторинної упаковки гелю для комплексного лікування захворювань носа	52
2.3. Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання субстанції	54
2.4. Розрахунок потреби у субстанції для випуску ЛЗ та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції	64
2.4.1. Розрахунок річної потреби.....	64
2.4.2. Розрахунок потужності виробництва наночасток срібла <i>Arthrobacter sp.</i> B4	65
РОЗДІЛ 3. ОБґРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ ЕКЗОПОЛІСАХАРИДУ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА	70
3.1. Обґрунтування стадій виділення і очищення цільового продукту	70
3.1.1. Етапи виділення та очищення екзополісахариду	71
3.1.2. Обґрунтування способу відділення біомаси	72
3.1.3. Обґрунтування методів видалення білків з супернатанту	74
3.1.4. Обґрунтування способу концентрування вільного від білків супернатанту.....	77
3.1.5. Обґрунтування методів виділення екзополісахариду	79
3.1.6. Обґрунтування способу сушіння виділеного екзополісахариду.....	81
3.1.7. Обґрунтування методів очищення екзополісахариду	83
3.1.8. Обґрунтування способу подрібнення екзополісахариду	85
3.1.9. Обґрунтування способу та матеріалу пакування субстанції екзополісахариду.....	87
РОЗДІЛ 4. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ .	90
РОЗДІЛ 5. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	95
РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ЛЗ	102
РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ	110
7.1. Визначення вмісту загального білка	110
7.2. Визначення вмісту екзополісахариду в розчині.....	111
7.3. Визначення молекулярної маси екзополісахариду за допомогою гель-хроматографії	112

7.4. Визначення складу виділеного екзополісахариду	112
7.5. Визначення вологості субстанції екзополісахариду	113
РОЗДІЛ 8. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ	115
8.1. Розрахунок річної потужності виробництва ЛЗ та кількості серій на рік	115
8.2. Обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень (підготовки персоналу, дезинфікуючих засобів, вентиляційного повітря)	115
8.3. Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки	122
8.4. Обґрунтування вибору підготовки води.....	123
8.5. Підбір технологічного обладнання для виготовлення гелю з врахуванням матеріальних потоків по стадіях	127
РОЗДІЛ 9. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ОТРИМАННЯ ГЕЛЮ З НАНОЧАСТКАМИ СРІБЛА.....	131
РОЗДІЛ 10. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ГЕЛЮ З НАНОЧАСТКАМИ СРІБЛА.....	133
10.1. Допоміжні роботи	133
10.2. Стадії технологічного процесу	135
РОЗДІЛ 11. ОПИС ГЕЛЮ З НАНОЧАСТКАМИ СРІБЛА ЗГІДНО АНД....	137
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	144
ДОДАТКИ.....	158

ВСТУП

Нещодавній прогрес нанотехнологій завдяки розробці чудових наноматеріалів високої точності було запропоновано вдосконалити та зробити внесок у різноманітні сектори та дисципліни, включаючи наномедицину, доставку ліків, цілеспрямована антимікробна активність, терапія раку, антиоксидантна активність, інформаційні технології, енергетичний сектор, харчова промисловість, розкладання барвників, очищення стічних вод і сільське господарство. Наноматеріали демонструють унікальні фізико-хімічні властивості (наприклад, електричні, магнітні, оптичні, механічні та каталітичні) порівняно з тими самими масовими матеріалами (>100 нм) через відмінності в їх розмірі (1–100 нм) і співвідношенні поверхні до об'єму. Нині кілька металів беруть участь у синтезі наноматеріалів, таких як срібло (Ag), титан (Ti), кремній (Si), залізо (Fe), цинк (Zn), золото (Au), мідь (Cu), тощо. Серед них наночастинки Ag (AgNP) викликають величезний інтерес як важлива група наноматеріалів завдяки їхнім фізико-хімічним властивостям, унікальному розміру частинок, регульованому поверхневому плазмонному резонансу (SPR), а також потенційно різноманітному набору наноматеріалів. застосування, від фармацевтичних до побутових продуктів [1].

У стародавні часи греки, римляни та єгиптяни використовували срібло та сполуки на основі срібла в харчових продуктах, питній воді, зберіганні їжі та навіть для лікування виразок для стимуляції загоєння ран і запобігання мікробним інфекціям. Срібло зазвичай вважалося антимікробним засобом. Проте відкриття першого антибіотика, пеніциліну, було зроблено Олександром Флемінгом у 1928 році.

Згодом було розроблено численні антибіотики; однак їх надмірне та безконтрольне використання часто не приносить ефективного лікування

НУХТ БТЕК 02.02.09 КР ПЗ

Вступ

Кафедра БТМ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	Літ.	Арк.	Акрушів
						9	159
Розроб.		Качківська М.О.			Кафедра БТМ		
Керівник		Пирог Т.П.					
Консультант							
Н. Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					

інфекцій, викликаних резистентними штамми патогенних мікробів [2]. Як наслідок, відбулося значне зростання мультирезистентності (MDR) через швидку еволюцію та розвиток стійких до антибіотиків генів у бактеріальних геномах. Через появу стійких до ліків мікроорганізмів, а також через неспроможність традиційної та традиційної медицини виникла глобальна серйозна проблема охорони здоров'я. У цьому контексті дослідники зосередилися на розробці нанорозмірних матеріалів для антимікробної терапії як заміни неефективних антибіотиків для боротьби з мікробами та патогенними мікроорганізмами, що викликають мультирезистентність [3]. Синтезується кілька металевих наночастинок [(наприклад, оксид срібла (Ag_2O), діоксид титану (TiO_2), оксид магнію (MgO), оксид цинку (ZnO), оксид міді (CuO), оксид кальцію (CaO) і золото (Au)] для антимікробної терапії, особливо Ag-НЧ привернули більше уваги завдяки своїй різноманітній антимікробній активності (наприклад, патогенні бактерії до грибків). Біоцидні властивості (проти мікробів) AgNPs, в основному три методи були прийняті для синтезу, фізичний (наприклад, метод випаровування-конденсації, іскровий розряд з методом піролізу та радіаційний метод), хімічний (з використанням кількох відновлюючих неорганічних і органічних хімікатів, таких як натрій цитрат, борогідрид натрію, реагент Толленса, аскорбат, N, N-диметилформамід і поліетиленгліколь-блок-сополімери) і зелений (рослинний екстракт, біополімери, бактерії, гриби та водорості). Традиційний фізико-хімічний метод має кілька недоліків, оскільки вони дорогі, потребують багато енергії та містять токсичні, небезпечні матеріали разом із НЧ, які є шкідливими для живих клітин. Замість фізичних і хімічних процедур значну увагу привернули підходи до біосинтезу, які використовуються останнім часом, оскільки вони недорогі, менш трудомісткі, біосумісні, нетоксичні та екологічні [4].

Оскільки Ag-НЧ використовуються в біологічних системах як антимікробний агент, підходи зеленого синтезу виявляються

найефективнішими шляхами синтезу, де різні біологічні субстрати використовуються як відновлюючі та стабілізуючі агенти для синтезу Ag-НЧ. Було проведено кілька досліджень для синтезу Ag-НЧ на основі біополімерів. Зокрема, мікробні екзополісахариди (ЕПС) мають величезний потенціал, щоб служити альтернативними біогенними субстратами для синтезу Ag-НЧ завдяки їх сильним відновлюючим і стабілізуючим властивостям завдяки присутності поліаніонних функціональних груп (наприклад, гідроксильних, карбоксильних, сульфатних, фосфорних груп). Крім того, ЕПС має цінну властивість, відому як мукоадгезія, яка сприяє нейтральному покриттю з низькою поверхневою енергією, а також обмежує розпізнавання неспецифічних білкових рецепторів. В останні десятиліття кілька Ag-НЧ, опосередкованих ЕПС, були успішно синтезовані та застосовані як антимікробний агент проти різних патогенних мікробів, що мають антибіоплівкову активність [5].

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ. ОСОБЛИВОСТІ БІОСИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ ЗА НАЯВНОСТІ МІКРОБНИХ ЕКЗОПОЛІСАХАРИДІВ

Останнім часом дослідницький інтерес до металевих наночастинок та їх виробництва значно зріс через їх інноваційне застосування в різних галузях промисловості. Наночастинки — це дисперсії твердих частинок із розміром від 1 до 100 нм. Наночастинки відкрили різні фронти для розробки нових матеріалів та оцінки їхніх властивостей шляхом модуляції розміру частинок, морфології та розподілу. Наночастинки металів широко досліджувалися завдяки їхнім унікальним характеристикам, таким як антимікробна, протипухлинна та каталітична активність, а також магнітні та оптичні властивості. Найважливішою властивістю металевих наночастинок є їх велике відношення площі поверхні до об'єму, що збільшує їх взаємодію з іншими молекулами. Завдяки цим перспективним характеристикам наночастинки привертають значну увагу в різноманітних сферах застосування, таких як біохімічні сенсори, електронне обладнання, каталізатори, біоаналіз, візуалізація пухлин, доставка ліків і процедури фармацевтичного лікування [6].

Бактеріальні екзополісахариди (ЕПС) - це біомолекули, які виділяються позаклітинно і виконують різні біологічні ролі, такі як захист навколишнього середовища, прикріплення до поверхні та взаємодія між клітинами. ЕПС досліджувались як агенти для екологічного виробництва ряду наночастинок металів, оскільки ЕПС мають здатність відновлювати іони металів для синтезу наночастинок і стабілізувати їх, діючи як блокуючі агенти [6].

Більшість літературних даних присвячена дослідженню біосинтезу наночастинок срібла за наявності мікробних екзополісахаридів [7-22]. Поодинокими є відомості про отримання наночастинок інших металів за

					НУХТ БТЕК 02.02.09 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Качківська М.О.			РОЗДІЛ 1. Огляд літератури	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Пирог Т.П.					12	159
Консультант								13
Н. Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В.П.						

участю ЕПС мікробного походження: цинку [41], нікелю [41], золота [31-33], кадмію [42] та заліза [14, 43].

1.1. Наночастки срібла

У літературі є відомості про синтез наночасток срібла за участю ЕПС, синтезованих бактеріями [7-14, 16-18], ціанобактеріями [15], водоростями [19-20], грибами [21-22]. Серед бактерій продуцентами ЕПС, здатних до утворення наночасток срібла, є молочнокислі бактерії [7-10], бактерії роду *Bacillus* [12-14] та інші – *Streptomyces*, *Arthrobacter*, *Shewanella*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Microbacterium*, *Acetobacter* [11, 14, 16, 18].

1.1.1. Утворення наночастинок срібла за участю екзополісахаридів грам-позитивних бактерій

Так, у роботі [7] дослідили синтез наночасток срібла при культивуванні *Leuconostoc lactis* у середовищі MRS з сахарозою. Утворення наночастинок ідентифікували за зміною безбарвного розчину на жовтий. Максимальний пік поглинання Ag-ЕПС-наночастинок був між 400 і 550 нм. Частинки мали сферичну форму із середнім розміром 35 нм (розмір коливався від 30 до 200 нм). Синтезовані Ag-ЕПС-НЧ володіли біологічною активністю, а саме проявляли здатність до деградації азобарвників: повна їх деградація досягалась за 240 хвилин.

Автори статті [8] визначили можливість синтезу наночасток срібла культивуванням *Lactobacillus brevis* MSR104 в аналогічному попередній статті середовищі. Концентрація ЕПС становила 0,16 г/л. Синтезовані наночастинок мали сферичну форму, а також проявляли біологічну дію [9]. Про утворення наночастинок срібла за наявності ЕПС *Lactobacillus brevis* NM101-1 свідчили УФ-спектри, у свою чергу, безбарвний розчин став жовтуватим-коричневим, що підтвердило утворення Ag-ЕПС-наночасток. Ag-ЕПС-наночастинок проявляли антимікробну дію, яку визначали методом дифузії в агар.

У середовищі MRS вирощували і продуцента, процес вирощування якого наведено в роботі [10]. Синтезовані *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC

53103 Ag-ЕПС-наночастинки були переважно сферичними, трикутними, паличкоподібними та гексагональними, розміром від 2 до 15 нм із середнім розміром 10 нм. Наночастинки срібла володіли антимікробною та антибіоплівковою дією. Утворення біоплівки *E. coli* та *P. aeruginosa* було повністю пригнічено (100%) при концентрації Ag-ЕПС-наночастинок 56 г/мл, тоді як ступінь інгібування біоплівки *L. monocytogenes* становив 32%.

Можливість біосинтезу наночастинок срібла на допомогу ЕПС штаму *Arthrobacter* sp. В4 встановили Лі зі співавторами [11]. Середовище містило глюкозу як субстрат (16 г/л) та дріжджовий екстракт як джерело азоту (2,5 г/л). Утворення Ag-ЕПС-НЧ визначалося за зміною кольору, а окислення іонів срібла підтверджувалося УФ спектрами, яке спостерігалось в діапазоні 400–500 нм. Утворені наночастинки були сферичними з діаметром 9–72 нм.

Авторами статті [12] було висвітлено спосіб культивування бактеріального штаму *Bacillus amyloliquefaciens* Ts-1 в середовищі Emerson YpSs (дріжджовий екстракт, розчинний крохмаль) з метою синтезу ЕПС для одержання наночастинок срібла. Про утворення наночастинок свідчило утворення піку при 419 нм. Розмір синтезованих частинок становив 10-50 нм.

Закі зі співавторами визначили особливості одержання Ag-ЕПС-наночастинок після вирощування *Bacillus mojavensis* 32A [13]. Середовище містило 1% пептону, 0,5% дріжджового екстракту та 0,5% яловичого екстракту. До поживного середовища додавали 3,5 мМ AgNO₃ та контролювали позаклітинний синтез Ag-ЕПС-НЧ шляхом візуального огляду зміни кольору середовища від світло-жовтого до коричневого. Наночастинки були розміром від 6 до 72 нм, невеликі, монодисперсні, сферичної форми.

Метою статті [14] було встановлення принципу одержання наночастинок срібла при культивуванні *Microbacterium hominis*, *Bacillus licheniformis*. Середовище Caso для культивування містило 20% сахарози як субстрату. Утворення наночастинок срібла та заліза досліджували шляхом вимірювання оптичної густини зразків у діапазоні довжин хвиль від 200-800 нм. В процесі вирощування *M. hominis* та *B. licheniformis* отримали 28,8717

мг/л та 35,5344 мг/л ЕПС відповідно. Максимальний пік поглинання для Ag-ЕПС-наночастинок був 419 та 344 нм, Розмір наночастинок срібла становив 12-42 нм, форма наночастинок гексагональна.

Результати вирощування ціанобактерій для синтезу наночастинок у середовищі з екзополісахаридами висвітлено у роботі [15]. *Nostoc pruniforme*, *Nostoc M5094-IBRC* культивували у середовищі BG-11. Перебіг реакції утворення наночастинок срібла спостерігали за зміною кольору розчину. Ag-ЕПС-наночастинок мали сферичну форму, а розмір наночастинок, синтезованих *Nostoc M5094-IBRC* та *N. pruniforme* становив 10–19 і 15–17 нм відповідно.

Отже, літературні дані підтверджують, що наночастинок срібла, синтезовані за наявності ЕПС грампозитивних бактерій, є ефективними антимікробними агентами, незалежно від методу дослідження їх антимікробної дії (метод дифузії в агар, мінімальна інгібуюча концентрація), а також проявляють протиракову, антибіоплівкову активність щодо бактеріальних та грибних патогенів. Окрім цього, такі Ag-ЕПС-наночастинок є ефективними деструкторами синтетичних барвників.

1.1.2. Синтез наночастинок срібла за участю екзополісахаридів грамнегативних бактерій

У іншій статті для синтезу ЕПС та наночастинок срібла використали грамнегативні бактерії [16]. *Shewanella oneidensis* MR-1 700550, *Aeromonas hydrophila* AB2015302, *Pseudomonas putida* AB2015303 вирощували у середовищі LB, кінцеві концентрації ЕПС та Ag⁺ становили 100 мг/л та 1 мМ відповідно. Розмір частинок синтезованих наночастинок срібла становив 5-35 нм, біологічну активність у даній роботі не визначали.

Морське середовище характеризується екстремальними фізико-хімічними умовами та характеризується наявністю незвичайних мікроорганізмів, які є перспективними для біотехнології. Отже, щоб вижити в таких умовах, морські мікроорганізми слідує унікальним біохімічним шляхам, що призводить до виробництва нових біоактивних сполук, включаючи екзополісахариди. Так, Mehta зі співавторами дослідили процес

одержання наночастинок срібла при вирощуванні *Alteromonas macleodii* PA2 [17]. Штам морських бактерій культивували у середовищі Zobell Marine Broth з 15% лактози. Синтез Ag-ЕПС-НЧ проводили шляхом розчинення 0,05% ЕПС у свіжоприготованому 9 мМ водному розчині AgNO_3 у співвідношенні 1:9. Наночастинки срібла мали сферичну форму, були розміром близько 70 нм. Встановленню біологічної активності у даній роботі увагу не приділяли.

Результати процесу отримання наночастинок срібла описано і в праці [18]. *Acetobacter xylinum* NCIM 2526 культивували у середовищі LB для отримання екзополісахариду левану. Отримання наночастинок срібла проводили додаванням 20 мг левану в 49 мл 0,2 % розчину гідроксиду натрію. Максимальний пік поглинання для Ag-ЕПС-наночастинок становив 418 нм. Розмір Ag-ЕПС-НЧ був у межах 10-29 нм.

Хоча у літературі інформація щодо отримання Ag-наночастинок за участі ЕПС грамнегативних бактерій є небагаточисельною, однак наявні відомості свідчать про перспективність їх мікробного синтезу та подальшого дослідження біологічної активності.

1.1.3. Екзополісахариди еукаріотичних мікроорганізмів у синтезі наночастинок срібла

У аналогічному середовищі вирощували і *Chlorella vulgaris* для одержання наночастинок срібла [19]. Одержані полісахариди мали складний моносахаридний склад (фруктоза, мальтоза, лактоза та глюкоза), сульфати ($210,65 \pm 10,5$ мг/г), уронові кислоти ($171,97 \pm 5,7$ мг/г), вміст загального білка $32,99 \pm 2,1$ мг/г, а загальний вміст вуглеводів становив $495,44 \pm 8,4$ мг/г. Концентрація синтезованих ЕПС склала 174,46 мг на 1 г біомаси. Утворення Ag-ЕПС-наночастинок підтверджувала змінна кольору розчину на коричневий. Ag-ЕПС-наночастинки мали сферичну форму, їх радіус становив 5,76 нм. За дії наночастинок срібла відбувалось інгібування росту бактерій та дріжджів: діаметр зони пригнічення *Bacillus* sp., *Candida* sp. та *Erwinia* sp. становив 1,867 мм, 1,6 мм та 1,433 мм відповідно.

Дослідження, описане у статті [20], також було спрямоване на вивчення особливостей одержання наночастинок срібла після культивування біологічного агента у середовищі BG11. Після культивування *Scenedesmus* sp. 145-3 було отримано 1,3 мг/мл позаклітинних полісахаридів. Форма Ag-ЕПС-наночастинок сферична, розмір 13-31 нм. Біологічну активність у даній роботі не досліджували.

У іншій роботі продуцентами ЕПС для синтезу наночастинок срібла виступили гриби та дріжджі – *Aspergillus niger* KIBGE-IB36, *Aspergillus terreus* KIBGE-IB35, *Aspergillus flavus* KIBGE-IB34, *Aspergillus fumigatus* KIBGE-IB33, *Saccharomyces cerevisiae* [21]. Гриби культивували у картопляно-декстрозному середовищі, а дріжджі – у середовищі YPD. Для синтезу наночастинок у відфільтрований супернатант культуральної рідини додавали 3,5 мМ AgNO₃. Ag-ЕПС-наночастинок проявляли антимікробну активність, яку аналізували за показником інгібування росту. Під дією Ag-ЕПС-НЧ зона інгібування росту *M. luteus* становила 16-22 мм, *S. typhi* – 11-13 мм, *E. coli* – 12-13 мм.

Здатність грибів до синтезу ЕПС для одержання наночастинок срібла дослідили і у праці [22]. *Aspergillus fumigatus* KIBGE-IB33 культивували у картопляно-декстрозному бульйоні (PDB), який містив 0,3 г/л картопляного крохмалю та 20 г/л декстрази. У безклітинний екстракт додавали аналогічну попередній статті кількість нітрату срібла (3,5 мМ) та витримували за відсутності світла. Максимальний пік поглинання для одержаних Ag-ЕПС-наночастинок становив 420 нм. Форма наночастинок рівномірна, гладка та дещо сферична, розмір менше 100 нм.

Таким чином, дані про участь екзополісахаридів еукаріотичного походження у одержанні наночастинок срібла засвідчують високі показники антибактеріальної, антифунгальної дії отриманих метаболітів завдяки унікальному складу таких ЕПС.

Інформацію щодо дослідження біосинтезу наночастинок срібла за допомогою мікробних екзополісахаридів узагальнено у таблиці 1.1

Таблиця 1.1

Використання мікробних екзополісахаридів для одержання наночастинок срібла з антимікробною активністю

Біологічний агент	Середовище культивування	Концентрація та склад синтезованих ЕПС, г/л	Концентрація розчину ЕПС для одержання наночастинок і спосіб одержання наночастинок	Характеристика наночастинок	Біологічна активність наночастинок	Література
<i>Leuconostoc lactis</i>	MRS середовище з 2% сахарози	Наявність лише мономерів глюкози вказує на глюканову природу ЕПС	Частково очищений ЕПС (10 мг) розчиняли в 10 мл води для утворення однорідної дисперсії та додавали 9 мМ AgNO ₃ при перемішуванні. Отриманий розчин зберігали в темному місці при кімнатній температурі. Через 24 год безбарвний розчин змінився на жовтий, що вказує на утворення наночастинок. Для підвищення концентрації розчину його додатково витримували в інкубації протягом 1 місяця. Зразки відбирали через різні інтервали та між ними, щоб знати прогрес утворення наночастинок. Після цього розчин центрифугували при 19200 об/хв протягом 15 хв. Осад збирали та сушили на повітрі при кімнатній температурі.	Максимальний пік поглинання Ag-ЕПС-наночастинок між 400 і 550 нм. Частинки сферичної форми із середнім розміром 35 нм (розмір коливається від 30 до 200 нм)	Ag-ЕПС-НЧ проявляли здатність до деградації азобарвників – повна деградація досягалась за 240 хвилин.	[7]
<i>Lactobacillus brevis</i> MSR104	MRS середовище	0,16	1% розчин ЕПС у дистильованій воді повільно додавали до розчину AgNO ₃ (2 мМ) при перемішуванні та інкубували в темряві на качалці при 120 об/хв протягом 60 хв. Під час інкубації прозорий безбарвний розчин став темно-коричневим, що вказувало на утворення Ag-ЕПС. Для очищення синтезованих наночастинок срібла (Ag-ЕПС-наночастинок) реакційну суміш центрифугували (9000 об/хв протягом 60 хвилин при 4 °С) і зібраний осад тричі промивали водою; висушували при 100°С до повного випаровування води. Останню	Наночастинки мали сферичну форму	Ag-ЕПС-НЧ проявляли: 1) антимікробну активність: МІК становили 8,2 мкг/мл та 12,5 мкг/мл проти <i>Esherichia coli</i> та <i>S. aureus</i> відповідно; 2) антиоксидантну дію: максимальна швидкість поглинання оксиду азоту 75,06±0,4% досягається при вищій концентрації Ag-ЕПС-наночастинок (100 мкг/мл) порівняно з аскорбіновою	[8]

Продовження таблиці 1.1

			стадію очищення повторювали чотири рази і очищені Ag-ЕПС-наночастинки висушували при 150 ° С протягом 8 годин.		кислотою (91,1±1,5%, яка використовувалась як стандарт); 3) протиракову активність: максимальна активність спостерігалась при концентрації 100 мкг/мл.	
<i>Lactobacillus brevis</i> NM101-1	MRS середовище	-	Розчин ЕПС (20 мл) змішували з рівним об'ємом 10 мМ водного розчину AgNO ₃ свіжоприготованого в деіонізованій воді при перемішуванні. Після 10 годин інкубації безбарвний розчин став жовтувато-коричневим, що підтвердило утворення Ag-ЕПС-НЧ. Суміш зберігали при кімнатній температурі 2 місяці в темному місці. Про утворення наночастинок свідчили УФ-спектри	Наночастинки були сферичної форми розміром від 11 до 25 нм із середнім розміром 18 нм.	Ag-ЕПС-наночастинки проявляли антимікробну дію, яку визначали методом дифузії в агар. Встановили інгібування бактеріальних патогенів (<i>B. subtilis</i> NCTC-10400, <i>S. aureus</i> ATCC-29213, <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC-109857, <i>E. coli</i> ATCC-10536, <i>P. aeruginosa</i> ATCC-10145, <i>Salmonella typhi</i> NCIMB-9331), зокрема діаметр зони інгібування <i>E. coli</i> становив 10,30 мм, <i>P. aeruginosa</i> – 9,56 мм, <i>B. subtilis</i> – 3,44 мм.	[9]
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG ATCC 53103	MRS середовище	Наявність мономерів арабінози, фруктози та галактози у складі ЕПС	Розчин ЕПС у кількості 20 мл змішували з 9 мМ водним розчином AgNO ₃ , щойно приготованим у деіонізованій воді в умовах перемішування. Суміш зберігали при кімнатній температурі 2 місяці в темному місці. Після 10 годин інкубації безбарвний розчин став жовтим, що підтвердило утворення Ag-ЕПС-наночастинок.	Синтезовані Ag-ЕПС-наночастинки були переважно сферичними, трикутними, паличкоподібними та гексагональними структурами розміром від 2 до 15 нм із середнім розміром 10 нм.	Зони інгібування росту <i>Aspergillus</i> spp. і <i>Penicillium</i> spp збільшувалися, коли концентрацію Ag-ЕПС-наночастинок збільшували з 0,2 мг до 2 мг/мл. Утворення біоплівки <i>E. coli</i> та <i>P. aeruginosa</i> було повністю інгібовано (100%) при концентрації Ag-ЕПС-наночастинок 56 г/мл, тоді як ступінь інгібування біоплівки патогену <i>L. monocytogenes</i> становив 32%.	[10]

Продовження таблиці 1.1

<p><i>Arthrobacter</i> sp. B4</p>	<p>Глюкоза – 16, дріжджовий екстракт – 2,5, K₂HPO₄ – 5</p>	<p>Фракція полісахаридів складалася з нейтральних цукрів (86,1%), уронової кислоти (12,8%), аміноцукрів не виявлено.</p>	<p>Синтез Ag-ЕПС-наночастинок. До 5 г/л розчину ЕПС штаму B4 дода проводили з використанням різної концентрації ЕПС штаму B4 (1, 2, 3, 4 та 5 г/л), який змішували з 1мМ розчином нітрату срібла (AgNO₃) для отримання Ag-ЕПС-наночастинок. До 5 г/л розчину ЕПС штаму B4 додавали різні кількості AgNO₃ (0,5, 1, 2 і 3 мМ). Реакційні суміші після досягнення гомогенності інкубували при 70, 80 і 90 °С відповідно. Утворення Ag-ЕПС-НЧ визначалося за зміною кольору, а окислення іонів срібла підтверджувалося УФ спектрами, яке спостерігалось в діапазоні 400 –500 нм.</p>	<p>Утворені наночастинок були типово сферичними з розміром діаметра частинок у діапазоні 9–72 нм</p>	<p>Ag-ЕПС-наночастинок проявляли антимікробну дію. Зони інгібування росту <i>P. aeruginosa</i> PAO1, <i>S. aureus</i> ATCC25923, <i>C. albicans</i> ATCC10231, <i>F. oxysporum</i> ATCC48112 за концентрацій 20, 50 та 100 мкг/л становили 25-37 мм, 25-35 мм, 20-30 мм та 20-27 мм відповідно.</p>	<p>[11]</p>
<p><i>Bacillus amyloliquefaciens</i> Ts-1</p>	<p>Середовище Emerson YpSs (дріжджовий екстракт, розчинний крохмаль)</p>	<p>У складі синтезованого ЕПС виявили манозу, глюкозу та галактозу</p>	<p>Для біосинтезу наночастинок срібла клітини інокулювали у 100 мл стерильного поживного середовища та інкубували на качалці зі швидкістю 200 об/хв протягом 48 годин при температурі 45°C. Після інкубації культуру центрифугували при 12000 об/хв протягом 10 хв. Супернатант збирали та використовували для позаклітинного виробництва наночастинок срібла шляхом змішування рівного об'єму стерилізованого фільтром розчину AgNO₃ з кінцевими концентраціями 1000 мкМ (1 мМ), 5000 мкМ (5 мМ), 10000 мкМ (10 мМ). Реакційну суміш інкубували на качалці (200 об/хв) при кімнатній температурі протягом 48 годин у темряві зі збереженням контролю (без додавання розчину AgNO₃ до безклітинного супернатанту). Періодично проводили візуальне спостереження для перевірки утворення наночастинок. Про утворення наночастинок свідчило утворення піку при 419 нм</p>	<p>Розмір частинок становив 10-50 нм</p>	<p>Ag-ЕПС-НЧ проявляли здатність до деградації азобарвників – піки поглинання барвника метиленового синього в дистильованій воді спостерігалися при 664 нм після інкубації 48 год.</p>	<p>[12]</p>
<p><i>Bacillus</i></p>	<p>1% пептону,</p>	<p>Комплекс</p>	<p>До поживного середовища додавали 3,5 мМ</p>	<p>Наночастинок були</p>	<p>Не досліджували</p>	<p>[13]</p>

<i>mojavensis</i> 32A	0,5% дріжджового екстракту та 0,5% яловичого екстракту	позаклітинних метаболітів штаму містив 98.4% ЕПС	AgNO ₃ . Суміш інкубували в темряві протягом 7 днів при 30°C при перемішуванні 200 об/хв. Позаклітинний синтез Ag-ЕПС-НЧ контролювали шляхом візуального огляду зміни кольору середовища від світло-жовтого до коричневого. Контрольний зразок був без додавання AgNO ₃ у поживне середовище.	розміром від 6 до 72 нм. Форма: сферичні, дрібні та монодисперсні.		
<i>Microbacterium hominis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i>	Середовище Caso, збагачене 20% сахарозою	28,8717 мг/л та 35,5344 мг/л відповідно	До водного розчину 1 мМ AgNO ₃ і FeCl ₃ додавали екзополісахарид (300 мкл), 1% природний полімер (карбоксиметилцелюлоза), <i>M. hominis</i> і <i>B. licheniformis</i> , як контроль використовували водний розчин металів. Суспензії інкубували при кімнатній температурі протягом 2 годин і 12 годин відповідно для завершення виробництва наночастинок срібла та заліза. Утворення наночастинок срібла та заліза досліджували шляхом вимірювання оптичної густини зразків у діапазоні довжин хвиль від 200-800 нм.	Максимальний пік поглинання для Ag-ЕПС-наночастинок був 419 та 344 нм, для Fe-ЕПС-НЧ – 283 та 36 нм відповідно. Розмір наночастинок срібла 12-42 нм (форма гексагональна), а наночастинок заліза 29-42 нм (форма кубічна).	Не досліджували	[14]
<i>Nostoc pruniforme</i> , <i>Nostoc</i> M5094-IBRC	BG-11 середовище	У складі ЕПС виявили глюкозу, галактозу, ксилузу, глюкуронову кислоту	До екстракту ціанобактерій додавали AgNO ₃ з кінцевою концентрацією 5 мМ. Розчин витримували у темному місці при кімнатній температурі протягом 24 год. Перебіг реакції спостерігали за зміною кольору розчину. Обидва колоїди наночастинок мали однакову концентрацію, оскільки титрування цих бактеріальних екстрактів за методом Мора показало, що 5 мМ AgNO ₃ перетворились на Ag-ЕПС-наночастинок. Екстракт ціанобактерій отримували так: біомасу відокремлювали від культурального середовища центрифугуванням при 4000 об/хв протягом 20 хвилин при 4°C, а потім 20 г біомаси суспендували в 50 мл	Ag-ЕПС-наночастинок мали сферичну форму. Розмір Ag-ЕПС-наночастинок, синтезованих <i>Nostoc</i> M5094-IBRC та <i>N. pruniforme</i> становив 10–19 і 15–17 нм відповідно.	Ag-ЕПС-наночастинок проявляли антимікробну активність: ПІК Ag-ЕПС, синтезованих <i>N. pruniforme</i> та <i>Nostoc</i> sp. IBRC-M5064 щодо <i>P. aeruginosa</i> B52 становили 26,25 та 105 мкг/мл відповідно, а щодо <i>P. aeruginosa</i> p48 – 13,12 та 52 мкг/мл відповідно.	[15]

			деіонізованої води протягом 5 днів. Потім супернатант відокремлювали центрифугуванням при 7000 об/хв протягом 20 хв при 4°C.			
<i>Shewanella oneidensis</i> MR-1 700550, <i>Aeromonas hydrophila</i> AB2015302, <i>Pseudomonas putida</i> AB2015303	Середовище LB	-	ЕПС розчиняли в 30 мМ буфері HEPES у флаконах із сироваткою, які продували N ₂ протягом 15 хвилин перед закупоренням гумовою пробкою, потім концентрований розчин AgNO ₃ додавали у флакони з сироваткою в анаеробних умовах. Кінцеві концентрації ЕПС та Ag ⁺ становили 100 мг/л та 1 мМ відповідно. Після внесення Ag ⁺ зразки збирали кожні кілька днів і розбавляли в п'ять разів у кюветах, в анаеробних умовах для наступного спектроскопічного УФ аналізу.	Розмір частинок становив 5-35 нм.	Не досліджували	[16]
<i>Alteromonas macleodii</i> PA2	Середовище Zobell Marine Broth, лактоза – 15%	23,4	Синтез Ag-ЕПС-НЧ проводили шляхом розчинення 0,05% ЕПС у свіжоприготованому 9 мМ водному розчині AgNO ₃ у співвідношенні 1:9 (об./об.). Суміш інкубували при 30°C у присутності світла. Зміна кольору розчину свідчить про утворення Ag-ЕПС-НЧ. Зразки відбирали кожні дві години для вивчення утворення наночасток.	Наночастинки срібла мали сферичну форму, були розміром близько 70 нм	Не досліджували	[17]
<i>Acetobacter xylinum</i> NCIM 2526	Середовище LB (6 % сахарози, 1,5 % пептону, 0,2 % сульфату амонію, 0,1 % калію дигідрофосфату, 0,1 % магнію сульфату гептагідрату)	-	1) Отримання наночастинок срібла: 20 мг левану розчиняли в 49 мл 0,2 % розчину гідроксиду натрію. До лужного розчину левану додавали 1 мл водного розчину нітрату срібла (кінцева концентрація 1 мМ). Розчин залишали перемішуватися при кімнатній температурі протягом 5 хвилин, а потім нагрівали до 100°C. Поява коричневого кольору вказувала на відновлення іонів срібла до Ag-ЕПС-НЧ. 2) Отримання наночастинок золота: наночастинки золота отримували нагріванням (100°C) 1 мМ хлориду золота в	Максимальні піки поглинання для Ag-ЕПС-наночастинок та Au-ЕПС-наночастинок становили 418 та 530 нм відповідно. Розмір Ag-ЕПС-НЧ становив 10-29 нм, Au-ЕПС-НЧ – 10-30 нм.	Не досліджували	[18]

Продовження таблиці 1.1

			лужному розчині левану протягом 30 хв. Поява фіолетового кольору свідчить про утворення AuEПС-НЧ.			
<i>Chlorella vulgaris</i>	BG11 середовище	<p>Полісахариди мають складний склад (фруктоза, мальтоза, лактоза та глюкоза), сульфати (210,65±10,5 мг/г), уронів кислоти (171,97±5,7 мг/г), вміст загального білка 32,99±2,1 мг/г, загальний вміст вуглеводів 495,44±8,4 мг/г.</p> <p>Концентрація полісахаридів – 174,46 мг/г біомаси</p>	<p>13 мг полісахаридів <i>Chlorella vulgaris</i> розчиняли в 90 мл дистильованої води та перемішували при 70°C. Готували розчин нітрату срібла концентрацією 100мМ. 3 мл AgNO₃ додавали по краплях при безперервному перемішуванні, а потім доводили рН до 10. Потім отриманий розчин центрифугували протягом трьох хвилин при 3000×g. Об'єм збільшували до 100 мл за допомогою дистильованої води та продовжували перемішувати при 85°C протягом 20 хвилин. Після завершення реакції розчин залишали в темряві протягом 24 годин при кімнатній температурі (25°C), колір розчину змінювався на коричневий, що підтверджує утворення Ag-ЕПС-наночастинок.</p>	<p>Ag-ЕПС-наночастинки мали сферичну форму. Радіус становив 5,76 нм, діапазон розподілу 3,63–8,68.</p>	<p>Ag-ЕПС-наночастинки проявляли антимікробну дію. Діаметр зони інгібування росту <i>Bacillus</i> sp., <i>Candida</i> sp. та <i>Erwinia</i> sp. становив 1,867 мм, 1,6 мм та 1,433 мм відповідно.</p>	[19]
<i>Scenedesmus</i> sp. 145-3	Середовище BG11	1,3 мг/мл	<p>Біомасу відокремлювали центрифугуванням (3000 об/хв), а супернатант використовували для екстракції позаклітинних полісахаридів. Рівний об'єм 95% етанолу додавали до вільної від клітин культуральної рідини та залишали в морозилці (20°C) на ніч. Осад полісахариду відокремлювали центрифугуванням у високошвидкісній центрифугі при 10000 об/хв. Осад сушили заморожуванням і визначали загальну масу. Сухий полісахарид суспендували в 3 мл 1 мМ водного розчину AgNO₃, рН 7, потім розділили на дві пробірки. Отриманий розчин інкубували при 25 °C під прохолодним білим флуоресцентним світлом (50 ммоль фотонів м² с⁻¹) або в темряві протягом 72 год. Вимірювання спектрів</p>	<p>Форма сферична, розмір 13-31 нм.</p>	<p>Не досліджували</p>	[20]

Закінчення таблиці 1.1

<p><i>Aspergillus niger</i> KIBGE-IB36, <i>Aspergillus terreus</i> KIBGE-IB35, <i>Aspergillus flavus</i> KIBGE-IB34, <i>Aspergillus fumigatus</i> KIBGE-IB33, <i>Saccharomyces cerevisiae</i></p>	<p>Середовище PD (картопляно-декстрозне) для грибів та YPD для дріжджів відповідно</p>	<p>В супернатанті виявили вуглеводи, що свідчить про наявність ЕПС, (згідно висновків авторів роботи)</p>	<p>поглинання проводили з інтервалом 12 год. Для відділення біомаси рідкі екстракти фільтрували через сито і потім центрифугували. Супернатант фільтрували за допомогою фільтра 0,45 мкм під вакуумом. Фільтрат використовували для синтезу наночастинок срібла. У відфільтрований водний розчин додавали AgNO₃ (3,5 мМ) та інкубували в темряві протягом 24-72 годин. Для спостереження відновлення іонів срібла до наночастинок срібла водні розчини регулярно контролювали на зміну кольору.</p>	<p>Дзета-потенціал синтезованих Ag-ЕПС-НЧ був на рівні 0,0124 мВ ±7,26 для <i>A. niger</i>, -18,8 мВ ±5,64 для <i>A. fumigatus</i>, -18,5 мВ ±5,00 для <i>A. flavus</i>, -20,9 мВ ±6,41 для <i>A. terreus</i> і -19,9 мВ ±5,76 для <i>S. cerevisiae</i>.</p>	<p>Ag-ЕПС-наночастинки проявляли антимікробну активність, яку аналізували за показником інгібування росту. Під дією Ag-ЕПС-НЧ зона інгібування росту <i>M. luteus</i> становила 16-22 мм, <i>S. typhi</i> – 11-13 мм, <i>E. coli</i> – 12-13 мм.</p>	<p>[21]</p>
<p><i>Aspergillus fumigatus</i> KIBGE-IB33</p>	<p>Картопляно-декстрозний бульйон (PDB), який містить (г/л): картопляний крохмаль – 0,3, декстроза – 20,0 .</p>	<p>-</p>	<p>Біомасу відокремлювали та поміщали в стерилізовану двічі деіонізовану воду (2500 мл). Цю суспензію витримували при 30 °С протягом 3 днів у статичних умовах. Через три дні біомасу відокремлювали ультрацентрифугованням (40 000 об/хв) при 4°С протягом 15 хвилин у стерилізованих умовах. Цей безклітинний екстракт далі використовувався для біосинтезу наночастинок срібла. Для цього нітрат срібла (3,5 мМ) додавали в безклітинний фільтрат і знову витримували в темряві при перемішуванні (100 об/хв) при 25 °С протягом 3 днів.</p>	<p>Максимальний пік поглинання для Ag-ЕПС-наночастинок становив 420 нм.</p> <p>Форма рівномірна, гладка та дещо сферична, розмір менше 100 нм.</p> <p>Значення дзета-потенціалу становило –22,1 мВ з індексом полідисперсності 0,4.</p>	<p>За дії Ag-ЕПС-НЧ зона інгібування росту <i>E. faecalis</i> ATCC 29212, <i>S. typhimurium</i> ATCC 3632, <i>P. aeruginosa</i> ATCC27853, <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644, <i>E. coli</i> ATCC 8739, <i>S. aureus</i> KIBGE-IB23, <i>B. cereus</i> ATCC 11778 була в діапазоні 9-13 мм.</p>	<p>[22]</p>

Таким чином, з огляду на дані, подані у таблиці 1.1, ЕПС, синтезовані грампозитивними бактеріями, забезпечують синтез наночасток срібла з антимікробними властивостями. Подібні результати спостерігали і за участі ЕПС еукаріотичного походження – синтезовані Ag-ЕПС-наночастинки також проявляли спектр біологічних властивостей, що обумовлює істотні переваги використання таких екзополісахаридів для одержання практично цінних метаболітів. Разом з тим, у літературі не описано дослідження біологічної активності наночасток Ag, одержаних за наявності ЕПС грамнегативних бактерій, однак такі продуценти синтезували вищі концентрації ЕПС, у порівнянні з грампозитивними представниками та еукаріотичними організмами.

1.1.4. Практичне застосування наночастинок срібла

Наночастинки срібла наразі використовуються як антимікробні та протизапальні засоби, а також у виробництві енергії, визначенні ДНК, каталізі, мікроелектроніці, оптиці, терапії раку, фарбуванні кераміки, вітражах, доставці ліків, передачі генів, дезінфікуючих засобах у медичних установах, як біозонди в клітинах для аналізу тканин у візуалізації мікро- та нанооб'єктів [14].

Фізичні та хімічні властивості наночасток срібла, включаючи хімічний склад поверхні, розмір, розподіл за розміром, форму, морфологію частинок, склад частинок, покриття/закриття, агрегацію, швидкість розчинення, реакційну здатність частинок у розчині, ефективність вивільнення іонів, тип клітини та тип клітин, що використовуються для синтезу, є вирішальними факторами для визначення цитотоксичності [23].

Завдяки своїм унікальним властивостям наночастки срібла широко використовуються в господарстві, галузі охорони здоров'я, а також для зберігання харчових продуктів, охорони навколишнього середовища та в біомедичній сфері. Більшість дослідників цікавить поглиблене дослідження застосування Ag-наночасток в різних біологічних і біомедичних сферах в

якості антибактеріальних, протигрибкових, противірусних, протизапальних, протиракових та антиангіогенних агентів [23].

Найбільш перспективними наноматеріалами для поточного комерційного застосування є саме наночастки срібла, ці унікальні речовини використовуються в текстилі, виробках електроніки, медичній промисловості, екологічних застосуваннях, консервуванні харчових продуктів та інших цілях. Ag-наночастки широко використовуються для різних цілей – наприклад, як дезінфікуючий засіб для очищення стічних вод і хірургічного обладнання для стерилізації [24].

Біоелектронні технології

Зокрема, Ag-наночастки використовуються в біосенсорах. Так, вміст наночастинок срібла використовується для кількісного виявлення в якості біологічних міток. Ag-НЧ також знайшли застосування при виробництві одягу, взуття, лаків та фарб, перев'язувальних матеріалів, приладів, косметики та пластмас. Наночастинки срібла сприяють покращенню провідності в електропровідному тонуванні та включаються в композитні системи. Ag-НЧ знайшли місце і в оптиці для ефективного збору та покращення оптичної спектроскопії, включаючи покращену флуоресценцію металу і поверхневу раман-дисперсію. Щодо наноелектроніки, оптоелектроніки та наноінженерії, то на перше місце наразі виходять інноваційні технологічні процеси, нанодвигуни, наноприводи, мікрооптоелектромеханічні системи, надвеликі інтегральні системи, нанороботи та інші пристрої, у виробництві яких наночастки срібла також відіграють важливу роль [24].

Медицина

Не менш важливими наночастки срібла є і для медицини. Загоєння ран - це складний біохімічний шлях, що включає кілька видів клітин, які працюють для регенерації функціональної шкіри, включаючи клітини шкіри та імунні клітини. Використання срібла в лікуванні ран вивчалось досить давно. Медичні вироби на основі срібла зі складнішою формою та підвищеною ефективністю, у порівнянні з традиційними засобами, були

запатентовані та комерційно використані для лікування ран та виразок різної тяжкості. У догляді за ранами біополімери в поєднанні з біологічно активними антимікробними, антибактеріальними та протизапальними наночастинками мають великий потенціал для сприяння загоєнню ран, особливо при лікуванні діабетичних виразок стопи, які все ще становлять величезну проблему внаслідок високої частоти ампутацій та витрат ресурсів [24].

Срібло відіграє важливу роль у загоєнні ран і, поряд із своєю особливою роллю у запобіганні інфекції, Ag-наночастки також можуть сприяти перетворенню фібробластів у міофібробласти, що у свою чергу полегшує та прискорює темп загоєння й індукує проліферацію та переміщення кератиноцитів [24].

Хімічна промисловість

Наночастки срібла характеризуються також своєю здатністю бути перспективними каталізаторами [25].

Було продемонстровано, що наночастинки срібла проявляють каталітичні окисно-відновні властивості щодо біологічних агентів, таких як барвники, а також хімічних агентів, таких як бензол. Хімічне оточення наночастинок відіграє важливу роль у їхніх каталітичних властивостях. Крім того зазначають, що складний каталіз відбувається шляхом адсорбції реагентів на каталітичному субстраті [25].

Синтезовані мікробним шляхом Ag-НЧ також можна розглядати як альтернативні засоби лікування цукрового діабету. Досліджено, що наночастки Ag, синтезовані *Sphaeranthus amaranthoides* інгібують α -амілазу та цукор на моделях тварин, індукованих діабетом. Також встановлено, що наночастинки є потужними терапевтичними засобами для контролю діабету. Повідомлялося, що Ag-НЧ ефективно інгібують ферменти, що перетравлюють вуглеводи, такі як амілаза та глюкозидаза, зі значеннями IC₅₀ 54,56 та 37,86 г/мл відповідно, що демонструє їхні протидіабетичні властивості. Однак, як повідомляють дослідники, наразі потрібно провести

більше досліджень, щоб переконатися в ефективності наночасток срібла як протидіабетичних [26].

Харчова промисловість та косметична галузь

Ag-наночастки також широко використовуються в галузі харчування та особистої гігієни. Відомо, що комерційні продукти, такі як сонцезахисні креми, шампуні для волосся, мило та миючі засоби, містять Ag-НЧ у своєму складі. Повідомляється, що наночастки срібла також запобігають шкірним захворюванням, таким як atopічний дерматит. Передбачається, що клітинна стінка бактерій може бути пошкоджена внаслідок впливу Ag-НЧ на неї. Наночастки можуть використовуватися як консерванти в косметиці, а також в складі препаратів проти акне завдяки їх антибактеріальній активності. Завдяки своїм антибактеріальним, протигрипозним і протираковим властивостям наносрібло (форма Ag-НЧ) також використовується в дієтичних добавках [26].

Випробування гострої шкірної токсичності на щурах із застосуванням гелю з наночастинок срібла (S-гелю) продемонстрували повний захист при місцевому застосуванні. Ці результати чітко показують, що наночастинок аргентуму у формі місцевих протимікробних препаратів можуть бути безпечнішою альтернативою звичайним протимікробним агентам. Нанорозмірний фосфат кальцію (апатит), який використовується в деяких спеціальних кремах для чутливих зубів, створює тонке покриття, схоже на звичайну зубну емаль, тим самим зменшуючи больову чутливість. Ag-НЧ використовуються в деяких денних і нічних кремах, щоб надати шкірі більш свіжий вигляд. Лінія засобів для макіяжу GNS Nanogistnanover™ включає наносрібло. Наносрібло міститься в милі, зубній пасті, вологих серветках, косметиці для губ, дезодорантах, пінках для обличчя та тіла. Повідомлялося, що очищувальне мило, що містить наносрібло, має бактерицидні та фунгіцидні властивості та допомагає лікувати акне та шкіру, пошкоджену сонячним ультрафіолетом. Основні показники включають високу ефективність для стримування поширення інфекційних захворювань

протягом обмеженого періоду впливу. Дослідники також показали, що Ag-наночастки проявляють активність щодо таких дріжджів, як *Candida glabrata* та *Candida albicans*, що дозволяє включати такі наночастки до засобів для догляду за ротовою порожниною. Для постраждалих від опіків крем для шкіри з наночастками срібла, який містить у тридцять разів менше срібла, ніж сульфадіазин срібла, є безпечнішим варіантом для лікування побічних інфекційних проявів [26].

Отже, у світлі вищезазначених досліджень наночастинки Ag проявили себе як ефективні засоби зі значним потенціалом для застосування у різних галузях. Позитивний вплив Ag-НЧ як нових, біосумісних і наноструктурованих матеріалів, створених для сучасних методів лікування, підтверджується значною кількістю наукових досліджень. Такі наночастки проявляють оптичні, хімічні та біологічні властивості. Крім того, їх антимікробний потенціал забезпечує їх використання для розробки та клінічної оцінки біоматеріалів і медичних засобів з покращеними характеристиками. Однак необхідним є проведення поглиблених досліджень їх гострої та довгострокової токсичності, а також механізмів, пов'язаних з токсичністю. Глибше розуміння механізмів прояву активності наночасток срібла обумовлює подальші дослідження з метою збільшення масштабів їх наномедичного споживання в сільському господарстві, фармацевтиці, терапії, діагностиці та інших сферах.

1.2. Наночастки золота

1.2.1. Синтез наночастинок золота за участю екзополісахаридів грампозитивних бактерій

У науковій літературі відомостей про синтез наночасток золота за наявності мікробних екзополісахаридів налічується небагато [18, 27-30], разом з тим, присутня інформація про вивчення синтезу наночасток Au у середовищі з білком синьо-зелених водоростей [31], екстрактом стручкового перцю [32], фітосполукою горденіном [33].

Наночастинки золота культивуванням *Lactobacillus plantarum* отримували автори статті [27]. Середовище MRS містило 2% сахарози, ЕПС у кількості 5 мл додавали до киплячого розчину $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ для одержання Au-ЕПС-НЧ. Частинки мали сферичну або дещо еліпсоїдну форму. Діаметр Au-ЕПС-НЧ становив 10-20 нм. Au-ЕПС-НЧ володіли антимікробною активністю і зумовлювали інгібування зони росту *E. coli* DH5 α на 1,9 мм.

Екстремофіли — це група організмів, яким приділяють недостатньо уваги при дослідженні нових біоматеріалів у галузі матеріалознавства та біонанотехнологій. У статті [28] екстремофільний бактеріальний сульфатований екзополісахарид мауран штаму *Halomonas maura* ATCC 7000995 використовується для отримання наночастинок золота, які використовуються для фототермічної абляції ракових клітин. Три різні концентрації маурану (1, 2 і 3 мг/мл) були синтезовані та змішані з 100 мкл 20×10^{-3} М розчину HAuCl_4 . Au-ЕПС-наночастинки мали різну форму та розташування: кластери, сфери, квазісфери, амебоїдні, полігональні, трикутні та п'ятикутні наночастинки. Синтезовані Au-ЕПС-НЧ мали протиракову активність.

Простий та екологічний метод синтезу наночастинок золота було розроблено з використанням трьох різних мікробних екзополімерів як відновлювачів і стабілізаторів. Екзополісахарид В3-15 було отримано внаслідок вирощування термофільних бактерій. Ліофілізовані наночастки золота проявляли антимікробну дію щодо бактерій та дріжджів. Мінімальні інгібуючі концентрації щодо *S. aureus*, *E. coli* та *C. albicans* становили 9,37-18,75 мкг/мл [29].

Таким чином, незважаючи на те, що інформації про наночастки золота, синтезовані за участю екзополісахаридів грампозитивних бактерій, налічується небагато, у порівнянні з одержанням наночасток срібла, однак такий спосіб отримання Au-ЕПС-НЧ є також перспективним і одержані метаболіти володіють антимікробною активністю.

1.2.2. Одержання наночастинок золота за участю екзополісахаридів грамнегативних бактерій

Штам АК103Т, що продукує екзополісахариди, був виділений із Самбхарлейка, Раджастан, Індія. На основі поліфазної таксономії було виявлено, що штам АК103Т є новим видом, якому було присвоєно назву *Natronotalea sambharensis* sp. nov. Штам був здатний синтезувати екзополісахарид (1,2 г/л) в оптимальних умовах.. Новий ЕПС отримав позначення Nat-103. Було виявлено, що ЕПС має антиоксидантну активність. Крім того, за наявності ЕПС Nat-103 отримували наночастинки золота [30].

Acetobacter xylinum NCIM 2526 культивували у середовищі LB для отримання екзополісахариду левану [18]. Наночастинки золота отримували нагріванням (100°C) 1 мМ хлориду золота в лужному розчині левану протягом 30 хв. Розмір Au-ЕПС-НЧ становив 10-30 нм.

Отже, екзополісахариди грамнегативних бактерій, що містять карбоксильні, гідроксильні, карбонільні та сульфатні ефірні групи, сприяють синтезу наночастинок золота з унікальними властивостями.

1.2.3. Використання екзополісахаридів еукаріотичного походження для синтезу наночастинок золота

Синтез наночастинок Au з біогенних матеріалів є безпечним для навколишнього середовища та має високі бактеріальні інгібуючі та бактерицидні властивості. У дослідженні [31] наведено опосередкований білком синьо-зеленої водорості *Spirulina platensis* синтез наночастинок золота та його антибактеріальна активність проти грамполозитивних бактерій.

Інтенсивне використання антимікробних препаратів призвело до появи резистентності мікробних патогенів до таких речовин. У дослідженні [32] наночастинки золота були синтезовані з використанням водного екстракту стручкового солодкого перцю (*Capsicum annuum*). Синтезовані Au-наночастинки були кристалічними із середнім розміром частинок 19,97 нм. Мікроскопічний аналіз показав, що адгезія та колонізація тест-культури *Serratia marcescens* МТСС 97 на твердій поверхні значно зменшилися за дії

синтезованих наночастинок золота. Присутність 25, 50, 100 і 200 мкг/мл Au-НЧ знижувала гідрофобність клітинної поверхні *S. marcescens* MTCC 97 до $44,83 \pm 3,97$, $35,53 \pm 2,21$, $21,16 \pm 1,95$ і $12,03 \pm 2,99\%$ відповідно. Отримані результати вказують на можливість застосування наночастинок золота для лікування бактеріальних інфекцій [32].

У статті [33] повідомляється про новий одноетапний біосинтез наночастинок золота з використанням фітосполуки горденіну як відновника та блокуючого агента. Синтез анізотропних наночастинок золота, отриманих за наявності горденіну, із середнім розміром частинок 136,87 нм було здійснено протягом 12 годин інкубації при кімнатній температурі. Отримані наночастинок проявляли здатність до руйнування біоплівки *P. aeruginosa* PAO1 до 78,41%. Загальні результати цього дослідження свідчать про значний антибіоплівковий ефект Au-НЧ для лікування хронічних бактеріальних інфекцій, спричинених патогенами, що утворюють біоплівки [33].

Узагальнюючи вищенаведені дані, за наявності екзополісахаридів, синтезованих еукаріотами, дослідникам вдалось отримати наночастки золота, які виявились активними антимікробними та антиадгезивними агентами, а також проявляли здатність руйнувати бактеріальні біоплівки.

1.2.4. Практичне застосування наночастинок золота

Серед наночастинок різних металів саме наночастки золота завдяки своїй менш цитотоксичній природі та відмінним оптичним властивостям широко використовуються в біомедичній галузі. Au-НЧ демонструють високий потенціал як носії для доставки генів, білків, ліків і малих молекул. Надходження наночастинок золота в різні клітини полегшується їх нанорозміром, що є однією з головних проблем у використанні Au-НЧ для доставки цільових речовин до певних тканин. Щоб подолати цю проблему та посилити взаємодію Au-НЧ з клітинами, дослідники функціоналізували поверхню цих наночастинок різними лігандами та біомолекулами. В останні

роки було розглянуто застосування функціоналізованих Au-наночастинок у біомедицині, що свідчить про динамічний розвиток у цій галузі [34].

Наночастинки золота представлені різними розмірами в діапазоні від 1 нм до 8 нм та формами, включаючи наносферу, нанострижень, нанокуб, наноклітку та розгалужену форму. Останнім часом біомедичне використання Au-НЧ обумовлено їх властивостями, серед яких наступні [35]:

- можливість синтезу в різних розмірах і формах;
- можливість простої функціоналізації за допомогою різноманітних біологічних молекул, включаючи лікарські засоби, гени та ліганди, що містять функціональні групи, такі як аміни, тіоли та фосфіни, через велику площу поверхні та наявність негативного заряду на їхніх поверхнях;
- стійкість до окислення, біосумісність та відсутність цитотоксичності;
- наявність унікальних оптичних та електронних характеристик, які пов'язані з формою, розміром і агрегаційним статусом наночастинок.

Біоелектронні технології

Оптичні властивості AuNP визначаються їх плазмонним резонансом, який пов'язаний із колективним збудженням електронів провідності та зосереджений у видимій та інфрачервоній областях залежно від структури, форми та розміру частинок. Високі коефіцієнти поглинання Au-НЧ, що забезпечує більшу чутливість у методах оптичного виявлення, порівняно зі звичайними барвниками. Усі ці специфічні властивості роблять Au-наночастки найбільш потенційним наноматеріалом для використання у біомолекулярному ультрачутливому виявленні, хімічному та біологічному зондуванні, маркуванні білків і клітин, молекулярній візуалізації та доставці ліків, генів, антигенів і антитіл у клітини [35].

Деякі наночастки золота можна використовувати як контрастні зображення, але це залежить від їхніх специфічних оптичних властивостей.

Досліджено потенційне використання Au-НЧ розміром 15 нм для мічення моноцитів і відстеження їх міграції на ранніх стадіях атеросклерозу за допомогою комп'ютерної томографії для встановлення ролі моноцитів у прогресуванні атеросклерозу та його регресії. Найважливішим є те, що наночастинки не заважали життєздатності моноцитів і не змінювали їх запальний профіль. Також є відомості про оцінку впливу розміру та покриття на поглинання моноцитами Au-наночасток для відстеження за допомогою комп'ютерної томографії. Використовували Au-НЧ з розміром від 15 до 150 нм – лише 150 нм наночастки виявляли токсичність. Крім того, наночастки золота, покриті сильно негативно зарядженою карбоною кислотою, виявляли краще поглинання моноцитами. Au-НЧ були використані в кількох інших дослідженнях *in vitro* та *in vivo*, що показало можливість їх застосування в інших передових методах біозображення, таких як комп'ютерна томографія рентгенівської флуоресценції, фототермічна фазова мікроскопія, фотоакустичне зображення та трифотонна люмінесценція [36].

Медицина

Фотодинамічна терапія вважається важливим засобом лікування онкологічних захворювань і деяких шкірних або інфекційних захворювань, у яких використовуються фотосенсибілізатори як світлосенсибілізуючі агенти та лазер. Апоптоз або некроз індукується в пухлинних клітинах синглетним киснем і високоактивними вільними радикалами, що утворюються за допомогою енергії фотосенсибілізаторів. Ефективне гасіння флуоресценції та поглинання поверхневого плазмонного резонансу є важливими характеристиками наночасток Au, які використовуються у фотодинамічній терапії. Крім того, кон'югація золота сприяє внутрішньоклітинному проникненню завдяки його схильності зв'язуватися з тіолами, дисульфідами та амінами [37].

Фототермічна терапія, відома як термічна абляція або оптична гіпертермія, є широко застосовуваним методом лікування раку з мінімальною інвазивністю та привертає велику увагу в останні роки. Тепло викликає

загибель злоякісних пухлин. Сферичні наночастки Au з діаметром понад 50 нм через сильне поглинання в ближньому інфрачервоному діапазоні частіше зустрічаються у фототермічній терапії [37].

Важливо розрахувати рівень іонізуючого терапевтичного випромінювання, який залежить від точних і швидких вимірювань радіації. Створено новий високочутливий наносенсор для виявлення гамма-випромінювання з одноланцюговими фрагментами ДНК, які служать «радіаційно-чутливими даними», а наночастинки золота — «репортерами сигналів» [38].

В останні роки широку увагу дослідників привернула ідея використання наночасток Au для доставки біологічно активних речовин [39].

Системи доставки ліків є багатообіцяючим підходом до загальної протипухлинної терапії, який може забезпечити ефективний цілеспрямований транспорт і подолати обмеження біохімічних бар'єрів в організмі, наприклад, мозкового гематобар'єру. Існує багато різноманітних форм для доставки ліків, включаючи ліпосоми, рідкі кристали, дендримери, полімери, гідрогелі та наночастинки. Серед них лише невелика кількість полімерів і ліпосом була клінічно схвалена. Таким чином, багато дослідників почали зосереджуватися на популярних наночастках золота. Було досліджено потенційну доставку протипухлинних ліків з використанням Au-НЧ. Крім того, їх також можна легко модифікувати для передачі різних лікарських засобів, які можуть бути зв'язані з наночастками золота шляхом фізичної інкапсуляції або хімічного (ковалентного чи нековалентного) зв'язку. Кон'югація Au-НЧ з іншими лікарськими засобами також можлива, але слід пам'ятати, що функціоналізація може змінити токсичність цих наночасток та їхню здатність до ефективного приєднання необхідних лікарських речовин. Використання модифікованих Au-НЧ знизило системну токсичність ліків і допомогло зменшити ймовірність розвитку резистентності раку до ліків [39].

Генна терапія - це використання екзогенної ДНК або РНК для лікування або профілактики захворювань. Зазвичай використовуються

вірусні вектори, але їх неможливо функціоналізувати, крім того, вони можуть активувати імунну систему господаря. Їх «дизайн» є негнучким, вони націлені на певні ділянки біологічної системи з високою цитотоксичністю та знижують ефективність генної терапії. Використання системи невірусних векторів (таких як металеві наночастинки) може вирішити цю проблему. Нещодавні дослідження показали, що Au-НЧ можуть захищати нуклеїнові кислоти шляхом запобігання їх деградації нуклеазами. Унікальні властивості наночасток золота, кон'югованих з олігонуклеотидами, можуть зробити їх потенційними носіями генів за допомогою ковалентного та нековалентного зв'язування. Ковалентні Au-НЧ можуть активувати імунозалежні гени в мононуклеарних клітинах периферичної крові, але не в клітинній лінії з обмеженим походженням. Це засвідчує перспективне застосування для систем доставки генів.

Нещодавно дослідники також знайшли докази того, що наночастки золота можна використовувати в якості білкових носіїв. Наприклад, було отримано інсулін, безпосередньо зв'язаний із голими Au-наночастками за допомогою ковалентного зв'язку, який проявляє більшу активність, ніж інсулін, пов'язаний водневими зв'язками з модифікованими амінокислотами Au-НЧ у трансмукозальній доставці препаратів для лікування цукрового діабету. У цьому випадку ефективність доставки інсуліну можна підвищити шляхом покриття наночасток золота нетоксичним біополімером, який може сильно адсорбувати інсулін на своїй поверхні [39].

Остеоартрит - це захворювання, яке характеризується болем у суглобах, набряком і скутістю. Суглобовий хрящ має обмежену здатність до самовідновлення через його аваскулярну та аневральну природу. Так, у роботі [40] показано використання наночастинок золота для посилення доставки хондроїтинсульфату для лікування остеоартриту. Дослідження життєздатності клітин виявили, що комплекс наночасток заліза з хондроїтинсульфатом стимулює клітинну проліферацію. У присутності даної комбінації спостерігалось двократне збільшення вироблення

глікозаміноглікану і колагену порівняно з нативним хондроїтинсульфатом, що вказує на те, що ця комбінація стимулює проліферацію хондроцитів і посилює вироблення позаклітинного матриксу. Отже, це дослідження демонструє потенціал Au-НЧ як носія хондроїтинсульфату для лікування остеоартриту.

Сільське господарство

Наночастки золота також використовують для вирощування різноманітних сільськогосподарських культур і пророщування насіння тих видів рослин, що знаходяться під загрозою зникнення. Було досліджено вплив Au-НЧ, синтезованих з використанням екстракту плодів *Terminalia arjuna*, на проростання насіння *Gloriosa superba* та ріст листя рослини. Було виявлено, що Au-наночастки сприятливо впливають на проростання насіння, подовження вузлів і вегетативний ріст рослин. Було показано, що проростання насіння *Gloriosa superba* та вегетативний ріст сильно корелюють з концентрацією Au-НЧ у навколишньому середовищі. Крім того, було помічено, що розпилення Au-НЧ у концентраціях 10 і 25 мг/л на рослини *Brassica juncea* сприяє збільшенню кількості хлорофілу. Таким чином, наночастинки золота сприятливо впливають на ріст і розвиток рослин [38].

Таким чином, нанотехнології та медицина мають все більший вплив на здоров'я людини. Тому використання вдосконалених наночасток золота може суттєво позитивно впливати на якість життя людини в найближчому майбутньому, відіграючи основну роль у вирішенні проблем медицини.

1.3. Наночастки інших металів

Також в інформаційних джерелах є роботи, які присвячені дослідженню мікробного біосинтезу наночасток інших металів.

1.3.1. Наночастки цинку та нікелю, синтезовані за участі мікробних екзополісахаридів

Так, у роботі [41] дослідники припустили, що мікробний ЕПС, вироблений *Rhodotorula mucilaginosa* UANL-001L, може виступати

блокуючим агентом у синтезі наночасток Zn та Ni, оскільки раніше не повідомлялося про синтез екзополісахаридів цим мікроорганізмом. Yeast Mold середовище для культивування містило 10 г/л глюкози як субстрату. Штам UANL-001L продукував 413,9 мг/мл ЕПС. Максимальний пік поглинання для Zn-ЕПС-наночастинок і Ni-ЕПС-наночастинок становив 347 і 348 нм відповідно. ZnO-ЕПС-наночастинок з діаметром 4-11 нм (середній діаметр $8,32 \pm 1,99$ нм) мали поліморфну форму, була характерна гексагональна геометрія. Для NiO-ЕПС-НЧ з діаметром 17-52 нм (середній діаметр $26,73 \pm 8,99$ нм) була характерна ромбоєдрична геометрія. Наночастинок Ni-ЕПС проявляли антимікробну (інгібування росту на 80-90 %) та антибіоплівкову активність (інгібування біоплівки на 80-90%) щодо *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* за концентрації 3 і 2 мг/мл відповідно. Наночастинок Zn-ЕПС (1 мг/мл) проявляли антимікробну активність щодо *Staphylococcus aureus* (інгібування росту на 90%) Синтезовані наночастки були нетоксичні: після введення 24 мг/кг маси тіла самців щурів не порушувалася функція нирок. Дзета-потенціал становив -84,3, -8,6 і -76,1 мВ для Zn-ЕПС-НЧ, Ni-ЕПС-НЧ і ЕПС відповідно.

1.3.2. Наночастки кадмію, утворені за наявності мікробних екзополісахаридів

Дослідження біосинтезу наночасток кадмію проводили Raj зі співавторами [42]. *Pseudomonas aeruginosa* JP-11 культивували у середовищі MBD, як прекурсор для синтезу CdS-ЕПС-НЧ використовували нітрат кадмію $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ як джерело іонів Cd^{+2} та сульфід натрію (Na_2S) як джерело іонів халькогену S^{-2} . При використанні ЕПС середній розмір частинок був у межах 22-24 нм.

1.3.3. Синтез наночасток заліза за участі мікробних екзополісахаридів

Для отримання наночасток заліза автори роботи [43] вирощували *Bacillus subtilis* VT03 у середовищі з глюкозою (15 г/л). Приблизно 2 мг/мл ЕПС додавали у водний розчин 3 М FeCl_3 (безводний) і 3 М FeSO_4 ,

розчинених у воді, у молярному співвідношенні 2 : 3 для Fe^{3+}/Fe^{2+} . Розмір FeO-ЕПС-НЧ був у межах 60-80 нм. FeO-ЕПС-наночастинки проявляли антимікробну дію. Зони пригнічення росту *A. hydrophila* ATCC 49140, *A. hydrophila* MTCC 1739, *A. sobria* MTCC 3613, *A. hydrophila* (лабораторний штам) за концентрацій 100-400 мкг/мл становили 1,33-7,66 мм. FeO-ЕПС-НЧ володіли цитотоксичним потенціалом щодо лінії клітин епідермоїдної карциноми людини A431. Значення IC50 FeO-ЕПС-НЧ становило 62,946 мкг/мл протягом 24 годин лікування.

У статті [14] встановили принцип отримання наночастинок заліза при культивуванні *Microbacterium hominis* та *Bacillus licheniformis*. Максимальний пік поглинання для Fe-ЕПС-НЧ склав 283 та 36 нм. Форма наночастинок заліза була кубічною, а розмір був у діапазоні 29-42 нм.

Отже, інформація щодо одержання наночастинок інших металів з мікробними ЕПС представлена відомостями про біологічну активність синтезованих наночастинок – антимікробна, антибіоплівкова активність, а також такі сполуки проявляють значний цитотоксичний потенціал.

1.3.4. Практичне застосування наночастинок інших металів

Завдяки нанорозмірності функціональних компонентів живих клітин застосування нанотехнологій у біомедичних цілях є актуальною проблемою сьогодення. Одним із перспективних напрямів є використання наночастинок цинку для молекулярної діагностики, цільової доставки ліків, створення нових фармацевтичних препаратів [44].

Наночастки цинку

Як відомо, цинк є одним з найважливіших мікроелементів, необхідних для життєдіяльності організмів. Цинк входить до складу металоферментів і гормональних комплексів. Водночас його дефіцит часто зумовлений патологічними станами, а зниження концентрації катіонів цинку може впливати на процеси життєдіяльності в клітинах. Наприклад, цинк відіграє важливу роль у таких біологічних процесах як ріст і поділ клітин,

цератогенез, остеогенез, імунна відповідь, загоєння післяопераційних ран; також відіграє роль у функціонуванні підшлункової залози.

Завдяки нанорозмірності частинки цинку набувають унікальних фізико-хімічних властивостей, які відрізняються від тих, якими вони володіють у відомих сполуках металів. Це дозволяє розширити спектр застосування наночасток цинку у біомедичній сфері. Наприклад, здатність наночастинок ZnO поглинати широкий спектр випромінювання (ультрафіолетове, мікрохвильове, інфрачервоне та радіочастотне) можна використовувати для виготовлення косметичних кремів та мазей, що захищають шкіру від ультрафіолетового випромінювання.

Наночастинки ZnO розміром 20-30 нм проявляють антибактеріальні властивості, що наразі є актуальним в текстильній промисловості для виготовлення тканин. При контакті з тілом людини одяг служить субстратом, на якому можуть рости мікроорганізми – цьому росту можна запобігти, використовуючи наночастинки ZnO у виробництві тканин [44].

Рак як стан неконтрольованої проліферації злоякісних клітин зазвичай лікують хіміотерапією, променевою терапією та хірургічним втручанням протягом останніх кількох десятиліть. Хоча теоретично такі методи лікування здаються вкрай ефективними для знищення ракових клітин, ці методи неселективної терапії також викликають багато серйозних побічних ефектів. Однак в останні роки було доведено, що наночастинки ZnO можуть виступати як біосумісні та біорозкладні наноплатформи, що обумовлює їх потенціал в лікуванні раку [45].

Відомо, що мітохондріальний ланцюг транспортування електронів пов'язаний з утворенням внутрішньоклітинних активних форм кисню (АФК), і протипухлинні агенти, потрапляючи в ракові клітини, можуть зруйнувати ланцюг транспортування електронів та вивільнити величезну кількість АФК. Однак надмірні кількості АФК призведуть до пошкодження мітохондрій і призведуть до втрати балансу білкової активності, що зрештою спричинить апоптоз клітин. Наночастки ZnO проявляють певну цитотоксичність у

ракових клітинах на основі внутрішньоклітинного вивільнення розчинених іонів цинку з подальшою посиленою індукцією АФК та індукованою загибеллю ракових клітин через сигнальний шлях апоптозу [45].

Наночастинки ZnO використовуються в ортодонції для покращення якості ортодонтичного лікування у формі дуг з нанопокриттям, ортодонтичних адгезивів і ортодонтичних брекетів. Ортодонтичні засоби, вкриті наночастинками оксиду цинку, мінімізують бактеріальну адгезію та демінералізацію емалі завдяки своєму антимікробному та ремінералізуючому ефекту. Сучасні дослідження присвячені вивченню внесення наночастинок ZnO як до ортодонтичних насадок, так і до зв'язувальних матеріалів для забезпечення антиадгезивного ефекту [46].

Наночастки нікелю

Наночастинки NiO також характеризуються широким спектром застосування у різних галузях. Так, наночастки нікелю використовуються при виробництві електродів акумуляторів, фотоелектронних пристроїв, матеріалів для накопичення іонів, датчиків (газовий датчик), магнітних матеріалів, термоелектричних пристроїв, каталізаторів, паливних елементів, сенсibiliзованих до барвників фотокатодів, електрохромних плівок, неферментативних датчиків глюкози тощо. Наночастинки NiO також виявляють антибактеріальну активність проти грампозитивних і грамнегативних патогенів [47].

Визначено, що функціонально заряджені Ni-НЧ можуть збільшити проникність клітинної мембрани та сприяти поглинанню раковими клітинами зовнішніх цільових молекул. Ці результати показують, що наночастинки нікелю володіють потенційним механізмом цитотоксичності щодо ракових клітин лейкемії, тому наночастки Ni можуть бути реалізовані у відповідних клінічних цілях [48].

Видалення барвників зі стічних вод має вирішальне значення для навколишнього середовища, оскільки органічні барвники є основними забруднювачами стічних вод. Органічні барвники погіршують якість води,

тим самим завдаючи значної шкоди здоров'ю людини. Більшість органічних барвників є токсичними, мутагенними та канцерогенними. Магнітні металеві наночастинки Ni проявляють ефективність у адсорбції барвників. Так, було підтверджено використання композитів з наночастинок Ni для виділення барвників із водного розчину. Виявили, що нанокompозит Ni з великим об'ємом пор і великою площею поверхні можна легко відокремити від водного розчину зовнішнім магнітом. Також повідомлено про використання наночастинок сульфиду Ni у комплексі з активованим вугіллям як нового адсорбенту для поглинання барвників метиленового синього та сафраніну-О [48].

Наночастки заліза

Наночастинки мають значну площу поверхні. Унікальна форма магнетизму, відома як суперпарамагнетизм, демонструється наночастинками заліза. Наночастинки заліза є найкращим каталізатором розрідження вугілля. Існує багато біомедичних застосувань, включаючи магнітне розділення та маркування біологічних матеріалів і специфічну доставку ліків. Наночастки заліза також посилюють контрастність МРТ, відіграють роль у вибірковому нагріванні ракових пухлин і видаленні важких металів [49].

Так, магнітні наночастинки заліза мають широкий спектр використання у медицині, включаючи магнітне розділення та маркування біологічних матеріалів, а також доставку лікарських засобів за призначенням. Наночастки заліза характеризуються багатообіцяючими перевагами, порівняно з оксидами заліза, внаслідок вищого магнітного моменту у нуль-валентному стані. У випадках направленої доставки ліків і магнітного розділення градієнт магнітного поля використовується для застосування сили до частинок, яка прямо пропорційна намагніченості частинки, причому перевага більшої намагніченості є досить суттєвою. Доставка лікарських засобів, спрямованих магнітним шляхом передбачає внутрішньовенну ін'єкцію магнітних частинок з подальшим застосуванням градієнта магнітного поля в області, де необхідна доставка речовин [49].

Суперпарамагнітні наночастинки оксиду заліза дозволяють спрямовувати рух частинок та при необхідності нагрівати їх у високочастотному електромагнітному полі. Для боротьби з карциномою наночастинки оксиду заліза також вкривають оболонкою, що містить певні ліганди для розпізнавання їх рецепторами пухлини [50].

Повідомляється, що наночастинки заліза діють як відновники та катализатори для видалення забруднень, таких як хром, свинець, миш'як і хлоровані розчинники. Деякі вчені сміливо запропонували безпосередньо вносити наночастинки заліза в забруднені зони для місцевої рекультивації. зазначено, що це вискоелективний метод деградації ксенобіотиків різноманітної природи [51].

Отже, використання наночастинок заліза стало значним проривом у наукових дослідженнях і розробках. У процесі досліджень вдалось досягти штучного синтезу стабільних наночастинок заліза для їх подальшого застосування в промисловості, сільському господарстві та побуті [52]. Такі властивості наночастинок заліза як висока адсорбція та розчинність були використані для процесів ремедіації ґрунту та очищення води.

Підсумовуючи та аналізуючи інформацію, яку було розглянуто в даному літературному огляді, використання ЕПС бактеріального, дріжджового, еукаріотичного походження забезпечує синтез наночасток металів з високим практичним потенціалом, оскільки такі метаболіти знаходять застосування у різних галузях промисловості завдяки своїм унікальним властивостям.

РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

2.1. Аналіз фармакологічних властивостей цільового ЛЗ, галузей використання, потреби у ЛЗ (нинішня та враховуючи перспективи)

У даному проекті запропоновано одержання наночасток срібла за наявності екзополісахаридів (ЕПС) штаму *Arthrobacter sp.* В4 для забезпечення річної потреби у гелі для комплексного лікування захворювань носа.

Обґрунтування потреби використання препаратів з наночастками срібла для лікування захворювань носа

В останні роки відзначають тенденцію до збільшення кількості як гострих, так і хронічних захворювань носа та навколоносових пазух у дорослих і дітей.

Нежить — універсальний симптом, зумовлений запальним процесом у верхніх дихальних шляхах, який включає набряк слизової оболонки, утруднення носового дихання і наявність патологічних виділень (ринорея, чи постназальне затікання). Сьогодні для визначення захворювань, які супроводжуються синдромом нежитю, використовують нещодавно введено в Україні Міжнародну класифікацію первинної медичної допомоги ІСРС-2-Е (Міністерство охорони здоров'я України, 2018). Вона включає декілька блоків, пов'язаних з ураженням тієї чи іншої системи або органа, зокрема патологія дихальної системи позначається індексом «R». Найтипівіші скарги представлені в зеленій зоні цієї класифікації. Для ураження верхніх дихальних шляхів характерні такі симптоми, як чхання, закладеність носа, інші симптоми з боку носа чи синусів [53].

Алергічний риніт (АР) і гострий риносинусит (ГР) мають спільні механізми етіопатогенезу і схожу симптоматику. Мультифакторний

НУХТ БТЕК 02.02.09 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Качківська М.О.			РОЗДІЛ 1. Техніко- економічне обґрунтування	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Пирог Т.П.					44	159
Консультант						Кафедра БТМ ^{ЛС}		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

етіопатогенез цих захворювань пов'язаний із генетичною схильністю, випадковими факторами, коморбідною патологією, наприклад цукровим діабетом, іншими обмінними порушеннями, артеріальною гіпертензією (застосування антигіпертензивних препаратів може супроводжуватися побічною дією щодо слизової оболонки дихальних шляхів). Можлива роль як зовнішніх факторів середовища (мікро- та макроекологічне оточення), так і внутрішніх факторів (функція остіомеатального комплексу, яка зв'язана з анатомією носової порожнини). Поєднання будь-яких факторів у різних комбінаціях так чи інакше формує схильність до захворювань, коли ж на фоні схильності додаються реалізуючі фактори — розвивається та чи інша патологія. Коли алергенне навантаження як реалізуючий фактор нашаровується на фоні схильності — розвивається АР. При інфекційному запаленні, яке найчастіше спричинене дією вірусів, розвивається ГР.

Клінічні симптоми ГР і АР універсальні та зумовлені комплексом дії тих чи інших медіаторів. У виникненні основних симптомів — порушення носового дихання (гостра чи хронічна закладеність носа), виділення з носа (ринорея), свербіж у носі чи в очах, чхання — провідну роль відіграють гістамін, простагландини, лейкотрієни, але баланс цих медіаторів запалення при зазначених захворюваннях різний.

Таким чином, АР і ГР — різні захворювання, але їх об'єднують певні спільні ланки формування, тому за клінічними проявами ці захворювання досить схожі [53].

Серед захворювань ЛОР-органів у дітей дошкільного та молодшого шкільного віку найчастіше виявляють гіпертрофію глоткового мигдалика і хронічний аденоїдит, що зумовлено анатомічним розміщенням глоткового мигдалика та його фізіологічними особливостями [54].

Частота розвитку хронічного аденоїдиту становить до 10% у хворих без гіпертрофії глоткового мигдалика, а за її наявності — значно більше (21,5–83,7%).

У розвитку хронічного аденоїдиту найбільше значення мають гноєтворні коки, бактерії, віруси та умовно-патогенні мікроорганізми, які на тлі зниження місцевого і загального імунітету внаслідок дії екзо- та ендогенних чинників призводять до розвитку хронічного запалення глоткового мигдалика. Останній найчастіше виникає внаслідок перенесеного гострого аденоїдиту. Патоморфологічні зміни при цьому майже аналогічні таким при хронічному тонзиліті. Нерідко запальний процес поширюється на бічні валки, слухову трубу та слизову оболонку глотки.

У хворих на хронічний аденоїдит часто виявляють захворювання порожнини носа, приносних пазух, слухової труби та вуха, глотки та гортані, а також патологічні зміни в нижніх дихальних шляхах, серцево-судинній та імунній системах [54].

Медикаментозне лікування при риніті

Залежно від причин і типу захворювання в терапії використовують препарати [10]:

- антибактеріальні – при лікуванні риніту, викликаного бактеріальною інфекцією (місцеві – при неускладненому риніті, у вигляді таблеток – у разі розвитку ускладнень);
- протівірусні – призначають для лікування нежитю при ГРВІ;
- судинозвужувальні – для звуження кровоносних судин і зняття набряку;
- зволожувальні – застосовуються в рамках комплексної терапії, сприяють нормалізації стану слизової, полегшують очищення носа від слизу;
- фіто-препарати – містять різні рослинні масла і екстракти, мають протизапальну, дезодоруючу дію, полегшують симптоматику.

Лікування риніту завжди проводиться в комплексі з лікуванням основного захворювання (порушення), що стало причиною нежитю [55].

Незважаючи на великий вибір лікарських засобів, проблема профілактики та лікування інфекційних захворювань залишається у центрі

уваги не тільки лікарів, а й суспільства в цілому, адже гострі інфекційні захворювання респіраторного тракту є найпоширенішими хворобами [56].

Поряд з великою поширеністю респіраторних вірусних інфекцій, що зазвичай має сезонний характер, викликає занепокоєння зростання кількості антибіотикорезистентних штамів бактерій. Як відомо, антибіотики на віруси не діють. Крім того, антибіотики виявляють токсичний вплив на організм і пригнічують імунітет. Вищенаведені обставини актуалізують пошук нових лікарських засобів, що мають виражену противірусну та антибактеріальну активність, а також можуть застосовуватися з метою профілактики ГРЗ. У цьому контексті інтерес представляють препарати колоїдного срібла, що виявляють комплексну антибактеріальну та противірусну активність.

Широкий спектр протимікробної дії срібла, відсутність стійкості до нього у патогенних мікроорганізмів, низька токсичність, відсутність алергенності, а також хороша переносимість сприяли підвищеному інтересу до срібла в багатьох країнах світу та створенню засобів протизапальної, антисептичної та бактерицидної дії на його основі [56].

2.2. Обґрунтування вибору форми випуску лікарського засобу

Дана робота присвячена технології отримання гелю для комплексного лікування захворювань носа з наночастками срібла, синтезованими за наявності екзополісахаридів (ЕПС) штаму *Arthrobacter sp.* В4.

На першому етапі необхідно розглянути та порівняти за основними характеристиками м'які форми лікарських засобів та обрати оптимальне первинне і вторинне пакування.

2.2.1. Обґрунтування форми випуску гелю для комплексного лікування захворювань носа

Серед м'яких лікарських форм виділяють мазі, пасти, лініменти, гелі [57].

Під терміном мазі об'єднується велика група різноманітних за складом і дією ліків, які мають в'язко-пружно-пластичну консистенцію. Мазі є офіційною лікарською формою. Державна Фармакопея України визначає

мазі як м'які лікарські засоби для місцевого застосування, призначені для місцевої терапевтичної або захисної дії або для проникнення лікарських речовин крізь шкіру. Мазі складаються з основи і лікарських речовин, рівномірно в ній розподілених. У заводському виробництві на мазі припадає близько 10% від загального обсягу виробництва ГЛЗ. Вони широко застосовуються в терапії багатьох дерматологічних захворювань, в офтальмології, отоларингології, хірургії, акушерстві, гінекології, проктології та інших галузях клінічної медицини. Мазі застосовуються не тільки для лікування, а й з метою профілактики або діагностики захворювань, а також як індивідуальні засоби захисту відкритих частин тіла від дії хімічних подразників на виробництві і в побуті; велику групу складають косметичні мазі для пом'якшення і живлення шкіри, вони можуть бути гігієнічними, лікувально-профілактичними і декоративними [57].

Серед м'яких лікарських засобів вкрай перспективною лікарською формою є гелі, які займають важливе місце в лікуванні ушкоджень слизової оболонки, опіків, мають рН, близький до рН шкіри, швидко виготовляються, не закупорюють пори шкіри, швидко і рівномірно розподіляються.

Гелі (від лат. *Gelo* – «застигає») – МЛФ для місцевого застосування, що являють собою одно-, дво- або багатофазні дисперсні системи з рідким дисперсійним середовищем, реологічні властивості гелів обумовлені присутністю гелеутворювачів в незначній кількості. В гелі можна вводити гідрофільні лікарські речовини, можна виготовити суспензійні гелі (наприклад, гель з сіркою). В даний час йде активне вивчення властивостей гелевих полімерів з метою впровадження у фармацевтичну практику м'яких лікарських форм на гелевій основі. Групу типових гелів утворюють ліофільні (оборотні) високодисперсні системи колоїдних поверхнево-активних речовин (ПАР). Гелі утворюються з відповідних золів за підвищення концентрації колоїдних ПАР або за зниження температури.

Специфічною властивістю типових коагуляційних структур є тиксотропія – здатність гелів відновлюватися у часі після руйнування

внаслідок механічної дії, а також переходити в золь під дією фізико-хімічних факторів. Гелі можуть бути не тільки коагуляційно-тиксотропними, а й конденсаційнокристалізаційними структурами. Останні утворюються з типових ліофобних золів, між частинками яких існує хімічний зв'язок. Вони мають високу міцність і руйнуються без зворотного відновлення.

В'язко-пластичні гелі, утворені гідрофільними ПАР і вищими жирними спиртами, до складу яких входять гідрофільні розчинники і осмотично-активні полімери, забезпечують високий ефект вивільнення лікарських субстанцій. Це посилює їх стимулювальну дію, та створює помірний рівень дегідратації з належними структурно-механічними властивостями. Гелі термодинамічно нестійкі, внаслідок синерезису дисперсна система самочинно руйнується з виділенням рідкої концентрованої фази в результаті самовільного ущільнення структурної сітки. При видаленні низькомолекулярного розчинника (висушуванні) гелі зазвичай необоротно руйнуються [57].

Пластирі на шкірні — еластичні препарати, що містять одну або більше діючих речовин. Вони призначені для застосування на шкірі. Розроблені для утримання діючої речовини (діючих речовин) у щільному контакті зі шкірою, так щоб ці речовини могли надавати місцеву дію. Пластирі на шкірні складаються з липкої основи, яка може бути забарвлена і містити одну або більше діючих речовин, нанесеної однорідним шаром на відповідну підкладку, виготовлену з натуральних або синтетичних матеріалів. Вони не мають виявляти подразнюючої або сенсibiliзуючої дії на шкіру. Липкий шар має бути вкритий підхожою захисною плівкою, яку видаляють перед аплікацією пластиру на шкіру. Під час видалення захисної плівки препарат не має відшаровуватися від підкладки. Пластирі на шкірні випускаються різних розмірів, пристосованих відповідно до їх призначення. Пластирі мають щільно прилипати до шкіри під час м'якого натискання і зніматися без помітних ушкоджень шкіри або відшарування препарату від підкладки [58].

Креми — багатофазові препарати, що містять ліпофільну і водну фази. Для ліпофільних кремів дисперсійним середовищем є ліпофільна фаза. Вони зазвичай містять такі емульгатори типу «вода в маслі», як спирти шерстного воску, ефіри сорбітолу і моногліцериди. Для гідрофільних кремів дисперсійним середовищем є водна фаза. Вони містять такі емульгатори типу «масло у воді», як натрієві або триетаноламінові мила, сульфатовані жирні спирти, полісорбати, поліоксиетиленові жирні кислоти і ефіри жирних спиртів, у комбінації, якщо необхідно, з емульгаторами типу «вода в маслі» [58].

За останні роки популярністю серед м'яких лікарських форм користуються гелі, які є найоптимальнішою лікарською формою для місцевого лікування. Гелі є безпечними для шкіри та зручними у застосуванні, рівномірно розподіляються на цільовій поверхні, утворюючи захисну плівку, проявляють охолоджувальну дію під час нанесення на шкіру внаслідок випаровування води, забезпечують рівномірне вивільнення активного фармацевтичного інгредієнта, а також є економічно доступними [59].

Важливими показниками гелів є консистенція, яку можна коригувати враховуючи реологічні властивості системи, завдяки яким можна передбачити поведінку середовища в технологічних процесах, також вони є важливими під час створення нових та вдосконаленні існуючих лікарських засобів [59].

Гелі є зручною лікарською формою для місцевої терапії: добре розподіляються і всмоктуються на слизовій оболонці носа, що обумовлює високу біодоступність активних речовин. Тісний зв'язок гелю з слизовою оболонкою полегшує проникнення лікарських речовин. Завдяки в'язкості формоутворюючих наповнювачів зменшується дифузія активного інгредієнту в порожнину рота, а відносно повільне розмивання біологічною рідиною дозволяє зберегти оптимальну концентрацію діючої речовини (ДР) на локалізованій ділянці [60].

Тому зважаючи на основні характеристики м'яких лікарських форм, у даній роботі запропоновано випускати засіб для комплексного лікування захворювань носа з наночастками срібла, отриманими за наявності екзополісахаридів штаму *Arthrobacter sp.* В4, у формі гелю.

2.2.2. Обґрунтування вибору первинної і вторинної упаковки гелю для комплексного лікування захворювань носа

Мазі, пасти, гелі, лініменти пакують в алюмінієві або пластмасові туби, банки зі скломаси з гвинтовою горловиною або із складроту з трикутним вінчиком. Недоліком банок є контамінація поверхні вмісту при його відбиранні.

Найкраще використовувати металеві туби, що необоротно стискаються, з внутрішнім лаковим покриттям, захисною мембраною і латексним кільцем. Алюмінієва туба практично повністю виключає можливість окиснення продукту, тому що дозволяє скоротити до мінімуму контакт продукту з повітрям. Захисна мембрана служить для контролю першого розкриття, забезпечуючи цілісність продукту до першого використання. До переваг туб також відносять міцність, легкість, гігієнічність, зручність у використанні, можливість діставати продукт невеликими порціями [61].

Туби алюмінієві для медичних мазей бувають двох типів: звичайні і з подовженим носиком. Обидва типи туб випускають для різних об'ємів. Внутрішня поверхня туб покрита захисним лаком для уникнення взаємодії продукту зі стінками, а зовнішня — декоративною водостійкою емаллю, на яку наносять маркування. Номер серії наносять шляхом тиснення на хвостовик туби при її запечатуванні.

Для закупорення туб випускають бушони з ПЕ, рідше — з ПС, ПП: грановані, конусні подовжені рифлені; конусні без рифлення для звичайних туб і бушони, подовжені для закупування туб з носиком. За наявності мембрани підбирається бушон з виступом для її пробивання — тобто відкривання туби [61].

Скло є найпоширенішим матеріалом у фармацевтичній промисловості для упаковки неін'єкційних форм. Його використовують для виготовлення флаконів, ампул, пляшок для зберігання, резервуарів для розчинників тощо. Скло має певні властивості, які роблять його придатним для пакування фармацевтичних продуктів. Ці властивості включають схвалення FDA, високу міцність, здатність модифікувати різні форми, кристально чистий зовнішній вигляд, доступність форми та розміру, питомий опір до різних хімічних речовин і газів. Флінтове або кришталеве скло є прозорим за своєю природою, що дозволяє візуально оцінювати зовнішній вигляд продукту. Вироби зі склотари тверді, прозорі, можуть поглинати світло з довжиною хвилі 300 нм і переважно складаються із силікатів свинцю та калію, у свою чергу кольорове скло використовується для захисту світлочутливих фармацевтичних продуктів від фотодеградації та відіграє значну роль у стабільності таких продуктів. Кольорове скло зазвичай складається з оксидів металів заліза, магнію тощо. Основною проблемою використання скляної тари для м'яких лікарських форм є складність виробництва контейнерів та крихкість скла [62].

Алюмінієва туба все ще залишається однією з упаковок, які найчастіше асоціюються з фармацевтичною промисловістю. Виробники мазей, кремів, гелів та багатьох інших препаратів вважають алюмінієву тубу ідеальним інструментом для легкого та безпечного транспортування, зберігання та використання м'яких лікарських форм препаратів. За останні десятиліття з'явилося багато інших пакувальних рішень в якості альтернативи алюмінієвій трубі, але жодне не змогло її замінити [63].

Перевагою використання алюмінієвої туби в якості первинної упаковки є зручність та безпечність використання, адже алюмінієва туба забезпечує ідеальний контроль дозування, що запобігає розбризкуванню лікарського препарату. Тубу можна закрити після використання та зберігати препарат без ризику пролиття вмісту або розбиття, на відміну від скляної тари.

Порівняно з іншими типами упаковки, використання алюмінієвої туби є гігієнічним, оскільки відсутній контакт ліків з навколишнім середовищем та кінцевим споживачем.

З початком пандемії та величезною кількістю медичних відходів, які утворилися за останні роки, навіть великі фармацевтичні компанії почали сумніватися в необхідності вибору екологічно безпечної упаковки, адже здоров'я людей тісно пов'язане зі станом навколишнього середовища. Алюмінієва труба значною мірою відповідає вимозі екологічності, оскільки алюміній можна на 100% переробляти протягом необмеженого часу без втрати його якості та з меншими витратами виробничих ресурсів [63].

Таким чином, в якості первинного пакування гелю для комплексного лікування захворювань носа обираємо алюмінієві туби.

Вторинна упаковка використовується для захисту первинних упаковок. Також вона забезпечує більшу інформативність, оскільки містить інформацію про місце, час і дату виробництва, склад препарату та способи його застосування. Основний вид вторинної упаковки – картонні коробки.

Нерідко використовується поліграфія високої якості. З одного боку, це збільшує кінцеву вартість ліків, з іншого – знижує ризик підробки. Тому вторинним пакуванням алюмінієвих туб з гелем будуть картонні упаковки з відповідним маркуванням.

2.3. Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання субстанції

У літературі є відомості про синтез наночасток металів за участю екзополісахаридів (ЕПС), синтезованих бактеріями, ціанобактеріями, водоростями, грибами. Серед бактерій продуцентами ЕПС, здатних до утворення наночасток, є молочнокислі бактерії, бактерії роду *Bacillus* та інші – *Streptomyces*, *Arthrobacter*, *Shewanella*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Microbacterium*, *Acetobacter*.

Тому варто здійснити порівняння продуцентів наночастинок для встановлення найпродуктивнішого штаму, який здатен до росту на економічно вигідному середовищі.

Перш за все, розглянемо екзополісахариди, за наявності яких синтезуються наночастинок, що проявляють біологічну активність.

Таблиця 2.1

Мікробні ЕПС та біологічна активність наночастинок, утворених за їх участі

Продуцент	Характеристика ЕПС	Біологічна активність наночастинок	Література
<i>Leuconostoc lactis</i>	Наявність лише мономерів глюкози вказує на глюканову природу ЕПС	Ag-ЕПС-НЧ проявляли здатність до деградації азобарвників – повна деградація досягалась за 240 хвилин.	[64]
<i>Lactobacillus brevis</i> MSR104	ЕПС має декстранову природу. Загальний вміст вуглеводів становив 65,3±1,5%	Ag-ЕПС-НЧ проявляли: 1) антимікробну активність: МІК становили 8,2 мкг/мл та 12,5 мкг/мл проти <i>Esherichia coli</i> та <i>S. aureus</i> відповідно; 2) антиоксидантну дію: максимальна швидкість поглинання оксиду азоту 75,06±0,4% досягається при вищій концентрації Ag-ЕПС-наночастинок (100 мкг/мл) порівняно з аскорбіновою кислотою (91,1±1,5%, яка використовувалась як стандарт); 3) протиракову активність: максимальна активність спостерігалась при концентрації 100 мкг/мл.	[65]
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	Наявність мономерів арабінози, фруктози	Зони інгібування росту <i>Aspergillus</i> spp. і	[10]

ATCC 53103	та галактози у складі ЕПС	<i>Penicillium</i> spp збільшувалися, коли концентрацію Ag-ЕПС-наночастинок збільшували з 0,2 мг до 2 мг/мл. Утворення біоплівки <i>E. coli</i> та <i>P. aeruginosa</i> було повністю інгібовано (100%) при концентрації Ag-ЕПС-наночастинок 56 г/мл, тоді як ступінь інгібування біоплівки патогену <i>L. monocytogenes</i> становив 32%.	
<i>Arthrobacter</i> sp. B4	Фракція полісахаридів складалася з нейтральних цукрів (86,1%), уронової кислоти (12,8%), аміноцукрів не виявлено.	Ag-ЕПС-наночастинки проявляли антимікробну дію. Зони інгібування росту <i>P. aeruginosa</i> PAO1, <i>S. aureus</i> ATCC25923, <i>C. albicans</i> ATCC10231, <i>F. oxysporum</i> ATCC48112 за концентрацій 20, 50 та 100 мкг/л становили 25-37 мм, 25-35 мм, 20-30 мм та 20-27 мм відповідно.	[11]
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> Ts-1	Наявність у складі ЕПС манози, глюкози та галактози	Ag-ЕПС-НЧ проявляли здатність до деградації азобарвників – піки поглинання барвника метиленового синього в дистильованій воді спостерігалися при 664 нм після інкубації 48 год.	[12]
<i>Nostoc pruniforme</i> , <i>Nostoc</i> M5094- IBRC	ЕПС містить глюкозу, галактозу, ксилозу, глюкуронову кислоту	Ag-ЕПС-наночастинки проявляли антимікробну активність: МІК Ag-ЕПС, синтезованих <i>N. pruniforme</i> та <i>Nostoc</i> sp. IBRC-M5064 щодо <i>P. aeruginosa</i> B52 становили 26,25 та 105 мкг/мл відповідно, а щодо <i>P.</i>	[65]

		<i>aeruginosa</i> p48 – 13,12 та 52 мкг/мл відповідно	
<i>Chlorella vulgaris</i>	Полісахариди мають складний моносахаридний склад (фруктоза, мальтоза, лактоза та глюкоза), сульфати (210,65±10,5 мг/г), уронові кислоти (171,97±5,7 мг/г), вміст загального білка 32,99±2,1 мг/г, загальний вміст вуглеводів 495,44±8,4 мг/г.	Ag-ЕПС-наночастинки проявляли антимікробну дію. Діаметр зони інгібування росту <i>Bacillus</i> sp., <i>Candida</i> sp. та <i>Erwinia</i> sp. становив 1,867 мм, 1,6 мм та 1,433 мм відповідно.	[66]
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UANL-001L	Складові ЕПС: фукоза, галактоза, маноза, глюкоза. Молекулярна маса 18,85 кДа	Ni-ЕПС проявляли антимікробну (інгібування росту на 80-90 %) та антибіоплівкову активність (інгібування біоплівки на 80-90%) щодо <i>Staphylococcus aureus</i> і <i>Pseudomonas aeruginosa</i> за концентрації 3 і 2 мг/мл відповідно. Zn-ЕПС (1 мг/мл) проявляли антимікробну активність щодо <i>Staphylococcus aureus</i> (інгібування росту на 90%) Нетоксичні: після введення 24 мг/кг маси тіла самців щурів функція нирок не порушувалася	[67]
<i>Halomonas tauro</i> ATCC 7000995	ЕПС мауран, який є гетерополісахаридом з високим вмістом уронової кислоти	Au-ЕПС-НЧ мають протиракову активність. Коли об'єм дози Au-ЕПС-НЧ було збільшено до 200 мкл, спостерігалось постійне підвищення температури до 80–90 ± 3°C протягом 10 с після	[68]

		опромінення лазером.	
<i>Bacillus subtilis</i> VT03	Глюканова природа ЕПС, наявність α -глюкози, β -глюкози, α -1,4-глюкану, β -1,6-глюкану	Зони пригнічення росту <i>A. hydrophila</i> АТСС 49140, <i>A. hydrophila</i> МТСС 1739, <i>A. sobria</i> МТСС 3613, <i>A. hydrophila</i> (лабораторний штам) за концентрацій 100-400 мкг/мл становили 1,33-7,66 мм. FeO-ЕПС-НЧ володіли цитотоксичним потенціалом щодо лінії клітин епідермоїдної карциноми людини А431. Значення IC50 FeO-ЕПС-НЧ становило 62,946 мкг/мл протягом 24 годин лікування.	[69]

Слід відзначити, що ЕПС декстранової природи мають широкий спектр властивостей, як видно з табл. 2.1, це антимікробна, антиоксидантна та протиракова активність. Також перспективними є новітні ЕПС, що складаються з різноманітних нейтральних цукрів, володіють антимікробною дією та не проявляють токсичного ефекту.

Отже, для порівняння обираємо три штами продуцентів: *Lactobacillus brevis* MSR104, *Arthrobacter* sp. B4 та *Rhodotorula mucilaginosa* UANL-001L [8,11, 67].

Штами *L. brevis* MSR104, *Arthrobacter* sp. B4 та *R. mucilaginosa* UANL-001L володіють антимікробною активністю. Так, наночастки срібла, синтезовані *L. brevis* MSR104 [8] проявляли: антимікробну активність: мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) становили 8,2 мкг/мл та 12,5 мкг/мл проти *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus* відповідно; антиоксидантну дію: максимальна швидкість поглинання оксиду азоту $75,06 \pm 0,4\%$ досягається при вищій концентрації Ag-ЕПС-наночастинок (100 мкг/мл) порівняно з аскорбіновою кислотою ($91,1 \pm 1,5\%$, яка використовувалась як

стандарт); а також протиракову активність: максимальна активність спостерігалась при концентрації 100 мкг/мл [10].

Ag-ЕПС-наночастинки штаму *Arthrobacter* sp. В4 проявляли антимікробну дію. Зони інгібування росту *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, *S. aureus* ATCC25923, *Candida albicans* ATCC10231, *Fusarium oxysporum* ATCC48112 за концентрацій 20, 50 та 100 мкг/л становили 25-37 мм, 25-35 мм, 20-30 мм та 20-27 мм відповідно [11].

Наночастки нікелю, отримані після вирощування *R. mucilaginosa* UANL-001L [72], проявляли антимікробну (інгібування росту на 80-90 %) та антибіоплівкову активність (інгібування біоплівки на 80-90%) щодо *S. aureus* і *P. aeruginosa* за концентрації 3 і 2 мг/мл відповідно. А наночастки цинку штаму UANL-001L у концентрації 1 мг/мл проявляли антимікробну активність щодо *S. aureus* і зумовлювали інгібування росту тест-культури на 90%.

У роботі [70] наведено, що за вирощування *Arthrobacter* sp. В4 у мінеральному середовищі з глюкозою та дріжджовим екстрактом рівень синтезу ЕПС становив 8,52 г/л після 72 годин культивування.

У статті [71] вказано особливості культивування ЕПС штамом *R. mucilaginosa* UANL-001L. Встановлено, що у мінеральному середовищі з цинком цей продуцент синтезував 650 мг/л (0,65 г/л) ЕПС протягом 72 годин.

Узагальнені дані щодо синтезу ЕПС вищевказаними продуцентами подано у таблиці 2.2.

Таблиця 2.2

Особливості одержання мікробних ЕПС, використовуваних для одержання наночасток металів

Продуцент	Характеристика ЕПС (хімічний склад, молекулярна маса)	Субстрат, концентрація	Концентрація синтезованих ЕПС, г/л	Спосіб виділення з культуральної рідини	Література
<i>Lactobacillus brevis</i> MSR104	ЕПС має декстранову природу. Загальний вміст вуглеводів становив 65,3±1,5%	Глюкоза, 20 г/л	0,16	Обробка супернатанту трихлороцтовою кислотою для видалення білків та осадження 95% етанолом	[8]
<i>Arthrobacter</i> sp. B4	Фракція полісахаридів складалася з нейтральних цукрів (86,1%), уронової кислоти (12,8%), аміноцукрів не виявлено	Глюкоза, 16,94 г/л	8,52	Трикратне осадження із супернатанту 70% етанолом	[11]
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UANL-001L	Складові ЕПС: фукоза, галактоза, маноза, глюкоза. Молекулярна маса 18,85 кДа	Декстроза, 20 г/л	0,65	Виділення із супернатанту фільтруванням з наступним осадженням ЕПС етанолом	[67]

Інформація, подана у табл. 2.2, свідчить про те, що штам *L. brevis* MSR104 синтезує найменшу кількість екзополісахариду, у той час як найвищий рівень синтезу ЕПС демонструє *Arthrobacter sp.* B4– 8,52 г/л. Отже, спираючись лише на дані таблиці 4.2. обрати найкращого продуцента не можемо, оскільки субстрат для культивування продуцентів однаковий, тому далі розрахуємо вартість 1 л поживного середовища для вирощування кожного штаму. Інформацію подано у табл. 2.3.

Таблиця 2.3

**Вартість поживних середовищ для культивування продуцентів
наночасток металів**

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело* (1,2,3,4,5)
<i>Lactobacillus brevis</i> MSR104	Пептон – 10	1060	10,6	1
	М'ясний екстракт – 8	688	5	2
	Дріжджовий екстракт – 4	1100	4,4	3
	Глюкоза – 20	22,7	0,45	4
	K ₂ HPO ₄ – 2	123	0,24	5
	Твін-80 – 1	82	0,08	6
	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₇ – 2	42,54	0,08	7
	C ₂ H ₃ O ₂ Na – 5	60	0,3	8
	MgSO ₄ · 7H ₂ O – 0,2	35	0,007	9
	MnSO ₄ – 0,04.	43	0,001	10
Вартість 1 л середовища становить – 21,15 грн.				
<i>Arthrobacter sp.</i> B4	Глюкоза – 16,94	22,7	0,38	4
	Дріжджовий екстракт – 2,23	1100	2,4	3
	KH ₂ PO ₄ – 5,32	31	0,16	11
	(NH ₄) ₂ SO ₄ – 0,6	81	0,04	12
	NaCl – 0,2	19	0,003	13
	K ₂ HPO ₄ – 3	123	0,3	5
	MgSO ₄ · 7H ₂ O – 0,2	35	0,007	9
	FeSO ₄ – 0,001	50	0,00005	14
Вартість 1 л середовища становить – 3,29 грн				
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UANL-001L	Декстроза – 20,	22,7	0,45	4
	Дріжджовий екстракт – 2.	1100	2,2	3
	KH ₂ PO ₄ – 1	31	0,03	11
	NaCl – 0,1	19	0,001	13
	MgSO ₄ · 7H ₂ O – 0,5	35	0,01	9
	CaCl ₂ – 0,1	25	0,002	15
	NH ₄ Cl – 2	58,5	0,11	16
	ZnSO ₄ · 7H ₂ O – 0,05	55	0,002	17
Вартість 1 л середовища становить – 2,8 грн				

Примітка: * – ціни наведено з урахуванням ПДВ станом на грудень 2023 р.:

1 – https://labormarket.com.ua/p1122819431-pepton-fermentativnyj.html?source=merchant_center

2 – https://bigl.ua/p1675545985-bulon-suhoy-govyazhij?utm_source=gmc_shopping&utm_medium=cpa&utm_content=top_product&utm_campaign=pla_produkty_pitaniya_napitki&utm_term=%7Bkeyword%7D&gclid=CjwKCAiAkfucBhBBEiwAFjbkrz6yHoBAWUvVFGAm6a5TSJY2y83c0wk6UpGmh2hUuq_ztPnsUIpQvxoCV2UQAvD_BwE

3 – <https://prom.ua/p1086437845-ekstrakt-drozhzhej.html>

4 – <https://prom.ua/p1026096823-glyukoza-pischevaya.html>

5 – <https://prom.ua/p1514436596-ammonij-fosfornokislyj-zameschennyj.html?&primelead=Mt4wOA>

6 – <https://megachem.com.ua/ua/tvin-80.html>

7 – <https://shop.hlr.ua/ammoniy-limonnokislyy-2-zameshchennyy-bv-ch-98252.html>

8 – https://www.covalent.com.ua/ru/shop/sodium_acetate/

9 – https://www.covalent.com.ua/ru/shop/manganese_sulfate

10 – <https://prom.ua/p47505427-sulfat-margantsa.html?&primelead=MC44>

11 – <https://soda.kiev.ua/ua/p18394377-kalij-fosfornokislyj-zameschennyj.html>

12 – https://labormarket.com.ua/p221793302-ammonij-sernokislyj.html?source=merchant_center

13 – <https://prom.ua/p1640793618-sol-pischevaya-kamennaya.html?&primelead=MC45MDk5OTk5Nw>

14 – <https://bigl.ua/p681446451-fungitsid-zheleznyj-kuporos>

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

16 – <https://prom.ua/p440466311-ammonij-hloristyj-hlorid.html?&primelead=Mt4wOA>

Таким чином, з даних таблиці 2.3. бачимо, що найдорожчим виявилось середовище для культивування *L. brevis* MSR104, у той час як середовища для вирощування *Arthrobacter sp.* B4 та *R. mucilaginosa* UANL-001L мають значно меншу вартість.

На наступному етапі розрахуємо умовну вартість 1 г ЕПС та концентрацію екзополісахариду, синтезованого за 1 год. Згідно табл. 2.4, найменшу кількість ЕПС за годину синтезує *L. brevis* MSR104 при найвищій вартості 1 г продукту. У свою чергу, найдешевшим виявився 1 г ЕПС, синтезований *Arthrobacter sp.* B4, а рівень синтезу продукту за годину значно перевищує показники штамів *L. brevis* MSR104 та *R. mucilaginosa* UANL-001L.

Таблиця 2.4

**Умовна вартість 1 г ЕПС при культивуванні продуцентів
наночасток**

Біологічний агент	Вартість 1 л середовища, грн	Концентрація ЕПС, г/л	Умовна вартість 1 г ЕПС, грн	Тривалість культивування, год	Концентрація ЕПС, синтезованого за год, г/л
<i>Lactobacillus brevis</i> MSR104	21,15	0,16	132,1	72	0,002
<i>Arthrobacter sp.</i> B4	3,29	8,52	0,38	72	0,11
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UANL-001L	2,8	0,65	3,8	72	0,05

Таким чином, з огляду на здатність до синтезу високих концентрацій екзополісахариду для отримання наночасток з антимікробною активністю та найнижчу вартість поживного середовища, найефективнішим продуцентом для отримання наночасток за наявності мікробних ЕПС серед описаних є *Arthrobacter sp.* B4.

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

2.4.1. Розрахунок річної потреби

Згідно даних Центру громадського здоров'я Міністерства охорони здоров'я України, з 3 жовтня 2022 року до 19 березня 2023-го в Україні на ГРВІ перехворіла 2 879 261 особа, що на 52,2% менше аналогічного періоду сезону 2021–2022 років. Дитяче населення є рушієм епідпроцесу: частка захворілих дітей у популяції становить 19%, частка дорослих — лише 4,4% [73].

При лікуванні захворювань носа показані препарати, що володіють антимікробною та антивірусною активністю. Серед них і м'які лікарські форми, що представлені назальними гелями. Такі препарати входять до комплексної терапії при лікуванні риніту, риносинуситу та інших захворювань ЛОР-органів.

На ринку України представлено препарат Дефлю Захист Ніс – гель по 10 г у тубах. Препарат містить колоїдний розчин срібла у концентрації 45-55 ppm в якості діючої речовини [74].

Для профілактики гострих респіраторних вірусних захворювань і грипу Дефлю Захист Ніс гель використовують протягом усього сезону підвищення захворюваності або при контакті з хворими на грип та ГРВІ. При гострих запальних захворюваннях носа Дефлю® Захист Ніс гель наносити на слизову оболонку носа 4-5 разів на добу. Курс застосування становить 5-10 днів [74].

Після відкриття препарат Дефлю Захист Ніс можна застосовувати протягом 3 місяців. Зважаючи на це припустимо, що для 1 людини на рік необхідно в середньому 2 туби гелю для лікування сезонних гострих респіраторних вірусних захворювань і грипу.

Отже розрахуємо кількість наночастинок, що припадають на лікування 1 людини. Якщо ppm – це мільйонна частка, тобто 50 мг наночастинок на мільйон вагових частин гелю, тобто 50 мг наночастинок на 1000 000 мг

гелю, або 50 мг наночастинок на 1000 г гелю, або $(50 \times 10) / 1000 = 0,5$ мг на тубу,

то у 2 тубах, що призначені для лікування 1 людини, міститься

$$0,5 \times 2 = 1 \text{ мг наночасток срібла.}$$

Приймаємо, що будемо забезпечувати гелем з наночастками срібла 75% людей, що перехворіли на ГРВІ в Україні з 3 жовтня 2022 року до 19 березня 2023 року

$$100\% - 2\,879\,261 \text{ осіб}$$

$$75\% - X \text{ осіб}$$

$$X = \frac{75 \times 2\,879\,261}{100} = 2\,159\,445 \text{ осіб}$$

Тоді для лікування 2 159 445 осіб необхідна кількість туб з гелем становить

$$2\,159\,445 \times 2 = 4\,318\,890 \text{ шт.}$$

Оскільки в 1 тубі міститься 0,0005 г наночасток срібла, тоді в складі 4 318 890 туб кількість наночасток становить:

$$4\,318\,890 \times 0,0005 = 2159 \text{ г} = 2,15 \text{ кг}$$

Отже, для забезпечення річної потреби у гелі для комплексного лікування захворювань носа для 2 159 445 осіб, що перехворіли на ГРВІ, необхідна кількість наночасток срібла становить 2,15 кг.

2.4.2. Розрахунок потужності виробництва наночасток срібла

Arthrobacter sp. B4

Визначимо, яка кількість полісахариду необхідна для одержання 2,15 кг наночастинок срібла. Згідно статті [11], для синтезу наночасток оптимальною концентрацією ЕПС була 5 г/л, а нітрату срібла – 1 мМ.

Перерахуємо 1 мМ нітрату срібла в грами. Якщо середня молярна маса наночастинки срібла дорівнює 107,87 г/моль [75], то 1 мМ (0,001 моль) дорівнює:

$$107,87 \times 0,001 = 0,1 \text{ г}$$

Розрахуємо за пропорцією:

0,1 г наночасток – 5 г ЕПС

2150 г наночасток – X

$$X = \frac{2150 \times 5}{0,1} = 107\,500 \text{ г} = 107,5 \text{ кг ЕПС}$$

Якщо концентрація ЕПС в культуральній рідині становить 8,52 г/л [75], то для отримання 107,5 кг ЕПС кількість культуральної рідини становить:

$$V_{\text{кр}} = \frac{107\,500}{8,52} = 12\,617,4 \text{ л}$$

Враховуючи сумарні втрати цільового продукту при виробництві (10 %), необхідна кількість культуральної рідини складає

$$V_{\text{кр}} = 12\,617,4 \text{ л} / (1 - 0,1) = 14\,019,3 \text{ л}$$

Приймаємо кількість робочих трудоднів ($T_{\text{рд}}$) 100. Тоді кількість продукту на добу ($V_{\text{д}}$) становитиме:

$$V_{\text{д}} = V_{\text{кр}} / T_{\text{рд}} = 14\,019,3 / 100 = 140,2 \text{ л}$$

Упродовж інших 230 робочих днів виробництво працюватиме над культивуванням наночасток інших металів за наявності мікробних екзополісахаридів.

Визначаємо кількість виробничих циклів на рік:

$$N_{\text{ц}} = V_{\text{кр}} / ((V_{\text{д}} \times T_{\text{цф}}) / 24) = 14\,019,3 / ((140,2 \times 78) / 24) = 30 \text{ циклів,}$$

де $T_{\text{цф}}$ – цикл роботи ферментера (мийка та огляд – 1,5 год, перевірка на герметичність – 0,5 год, підігрів та стерилізація апарату – 1,5 год, охолодження ферментера – 0,5 год, завантаження поживного середовища – 1,5 год, засів культурою – 0,5 год та ферментація – 72 год).

Далі розрахуємо кількість культуральної рідини за один цикл, ($V_{\text{крц}}$):

$$V_{\text{крц}} = K_1 \times V_{\text{д}} \times T_{\text{цф}} / 24 = 1,1 \times 140,2 \times 78 / 24 \approx 500 \text{ л,}$$

де K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій.

Геометричний об'єм ферментера для отримання 500 л культуральної рідини з коефіцієнтом заповнення 0,5 має становити:

$$V_{\text{г}} = V_{\text{крц}} / K_{\text{зап}} = 500 / 0,5 = 1000 \text{ л} = 1 \text{ м}^3,$$

де $K_{\text{зап}}$ – коефіцієнт заповнення ферментера.

Розрахунок кількості стадій отримання посівного матеріалу для вирощування культури у ферментері 1 м³

За виробничий цикл отримують $V_{\text{кр}} = 500$ л культуральної рідини.

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед виробничим біосинтезом (з урахуванням втрат в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря (10%)) становитиме:

$$V_{\text{роб.1}} = \frac{V_{\text{кр}}}{1 - E_{\text{ф}}} = \frac{500}{1 - 0,1} \approx 555 \text{ л}$$

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

Виробничий біосинтез здійснюють у ферментері з робочим об'ємом $V_{\text{роб.1}} = 555$ л.

При вибраному коефіцієнті заповнення $K_{\text{зап}} = 0,5$ можливий геометричний об'єм ферментера $V_{\text{ф.1}} = 555/0,5 = 1111$ л. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{\text{сф}} = 1000$ л та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап.1}} = \frac{V_{\text{роб.1}}}{V_{\text{сф}}} = \frac{555}{1000} = 0,55$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах.

Кількість посівного матеріалу для ферментера становить 10% від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища у ферментері становитиме:

$$V_{\text{пс1}} = \frac{V_{\text{роб.1}}}{1 + X_{\text{ф}}} = \frac{555}{1 + 0,1} = 505 \text{ л}$$

де $X_{\text{ф}}$ – доза посівного матеріалу для ферментера.

Кількість посівного матеріалу для ферментера становить:

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб.1}} - V_{\text{пс1}} = 555 - 505 = 50 \text{ л}$$

Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в інокуляторі 100 л

Для одержання 50 л посівного матеріалу кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в інокуляторі (з урахуванням втрат в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря) становитиме:

$$V_{\text{роб.2}} = \frac{V_{\text{пм1}}}{1 - E_{\text{ін}}} = \frac{50}{1 - 0,1} = 55 \text{ л}$$

Можливий геометричний об'єм інокулятора $V_{\text{ін.}} = 55/0,5 = 110$ л. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний інокулятор $V_{\text{сін}} = 100$ л та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап.2}} = \frac{V_{\text{роб.2}}}{V_{\text{сін}}} = \frac{55}{100} = 0,55$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах.

Кількість поживного середовища в інокуляторі становитиме:

$$V_{\text{пс2}} = \frac{V_{\text{роб.2}}}{1 + X_{\text{ін}}} = \frac{55}{1 + 0,1} = 50 \text{ л}$$

Тоді кількість посівного матеріалу для інокулятора становить:

$$V_{\text{пм2}} = V_{\text{роб.2}} - V_{\text{пс2}} = 55 - 50 = 5 \text{ л}$$

Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в інокуляторі 10 л

Для одержання 5 л посівного матеріалу кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в інокуляторі (з урахуванням втрат в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря) становитиме:

$$V_{\text{роб3}} = \frac{V_{\text{пм1}}}{1 - E_{\text{ін}}} = \frac{5}{1 - 0,1} = 5,5 \text{ л}$$

Можливий геометричний об'єм інокулятора $V_{\text{ін.}} = 5,5/0,5 = 11$ л. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний інокулятор $V_{\text{сін}} = 10$ л та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап.3}} = \frac{V_{\text{роб.3}}}{V_{\text{сін}}} = \frac{5,5}{10} = 0,55$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах.

Кількість поживного середовища в інокуляторі становитиме:

$$V_{\text{псз}} = \frac{V_{\text{роб.з}}}{1 + X_{\text{ін}}} = \frac{5,5}{1 + 0,1} = 5 \text{ л}$$

Тоді кількість посівного матеріалу для інокулятора становить:

$$V_{\text{пмз}} = V_{\text{роб.з}} - V_{\text{псз}} = 5,5 - 5 = 0,5 \text{ л}$$

**Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування
культури в колбах на качалці**

Для одержання 0,5 л посівного матеріалу використовують качалочні колби об'ємом 750 мл, коефіцієнт їх заповнення становить $K_{\text{зк}} = 0,2$. Кількість колб становитиме:

$$N_{\text{колб}} = \frac{V_{\text{пмз}}}{V_{\text{колб}} \times K_{\text{зк}}} = \frac{500}{750 \times 0,2} = 3 \text{ колби}$$

Отже, для одержання посівного матеріалу в колбах на качалці кількість колб має становити 3 шт.

РОЗДІЛ 3. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ ЕКЗОПОЛІСАХАРИДУ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА

Мікробні екзополісахариди — високомолекулярні екзогенні продукти метаболізму мікроорганізмів — є об'єктом інтенсивних теоретичних і прикладних досліджень, які мають важливі функції для життєдіяльності мікроорганізмів, такі як захист від впливу зовнішнього середовища, регулювання росту та взаємодія з іншими мікробами [72].

Екстракція та очищення екзополісахаридів є важливими процесами, оскільки ці речовини можуть мати потенційні медичні, промислові та біотехнологічні застосування. Наприклад, екзополісахариди можуть використовуватися як протизапальні та антимікробні агенти, стабілізатори та емульгатори [76].

Дослідження етапів виділення та очищення екзополісахаридів можуть допомогти вдосконалити технології отримання цих речовин з мікроорганізмів, зменшити витрати на виробництво та забезпечити високу якість продукту. Додатково, такі дослідження можуть допомогти зрозуміти властивості та функції екзополісахаридів, що може привести до розробки нових застосувань цих речовин у різних галузях [76].

3.1. Обґрунтування стадій виділення і очищення цільового продукту

Біологічний синтез субстанції не є єдиною частиною виробничого процесу. Перед тим, як її можна буде запропонувати на ринку, необхідна субстанція має бути відокремлена від біомаси та очищена до певного ступеня в залежності від її застосування. Із зростанням ефективності та гнучкості біологічного синтезу різко зростає внесок вартості очищення в кінцеву ціну продукту (субстанції). Щоб реалізувати весь потенціал біотехнологічного

					НУХТ БТЕК 02.02.09 КР ПЗ						
					РОЗДІЛ 3. Обґрунтування вибору технологічної схеми виділення та очищення екзополісахариду						
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				Літ.	Арк.	Акрушів	
		<i>Качківська М.О.</i>									
		<i>Пирог Т.П.</i>									
					Кафедра БТМ						
		<i>Стабніков В.П.</i>									
Затверд.											

виробництва, необхідно ґрунтовно підійти до вирішення питання вибору етапів виділення та очищення та методів, які будуть застосовані для їх проведення [77].

3.1.1. Етапи виділення та очищення екзополісахариду

Для виділення та очищення синтезованого біологічним агентом екзополісахариду (ЕПС) необхідно здійснити наступні процеси:

- 1) Відділення біомаси:
 - Центрифугування культуральної рідини.
- 2) Видалення білків з супернатанту:
 - Осадження білків трихлороцтовою кислотою;
 - Відділення осаду білків центрифугуванням.
- 3) Виділення екзополісахариду:
 - Концентрування вільного від білків супернатанту ультрафільтрацією;
 - Осадження ЕПС етанолом;
 - Відділення осаду ЕПС центрифугуванням;
 - Зневоднення осаду ЕПС промивкою чистим етанолом;
 - Вакуумне сушіння
- 4) Очищення екзополісахариду:
 - Розчинення ЕПС;
 - Фільтрування розчину ЕПС;
 - Повторне осадження ЕПС етанолом з наступною промивкою чистим етанолом для зневоднення
 - Висушування.
 - Подрібнення
 - Фасування

Вихідні дані:

- a. об'єм культуральної рідини з однієї ферментації - $V_{кр}$
= 500 л;

b. концентрація цільового продукту у КР $C_{\text{ант}} = 8,52 \text{ г/л}$
($8,52 \text{ кг/м}^3$)

c. концентрація біомаси у КР $C_{\text{БМ}} = 0,9 \text{ г/л}$ ($=0,9 \text{ кг/м}^3$)
– АСБ,

d. втрати на стадіях виділення цільового продукту
складають 20%:

**початкова кількість цільового продукту, яка поступає з
КР складає 4,96 кг; кінцева кількість (з урахуванням
25% втрат) має становити 3,77 кг.**

3.1.2. Обґрунтування способу відділення біомаси

Для відділення біомаси може бути застосоване:

- ✓ фільтрування;
- ✓ центрифугування.

Фільтрування – процес розділення з допомогою пористої перегородки, здатної пропускати рідину або газ, але затримувати завислі в середовищі тверді частинки. Воно здійснюється під дією сил тиску або відцентрових сил і застосовується для більш тонкого розділення суспензій і пилу, ніж шляхом осадження [78].

Фільтрування з утворенням осаду найбільш поширене. У більшості випадків тверді частинки в початкові моменти з початку фільтрування проходять через пори фільтрувальної перегородки, але скоро накопичуються на ній, і через фільтр починає протікати тільки освітлена рідина—фільтрат. Таким чином, у цьому процесі утворений шар осаду грає роль основного фільтруючого середовища [78].

Для фільтрування можуть бути застосовані:

- нутч-фільтри (закритого та відкритого типу);
- стрічкові вакуум-фільтри [78].

Перевагами застосування даного обладнання є:

- ✓ можливість ретельної промивки осадів, легкість захисту від корозії, простота і надійність конструкції (відкритий нутч-фільтр);

- ✓ значна швидкість фільтрування, можливість розділення важко фільтруючих осадів, можна розділяти суспензії, які виділяють вогнебезпечні або токсичні пари (закритий нутч-фільтр);
- ✓ співпадання напрямків фільтрування і осадження, простота конструкції, зокрема відсутність розподільчої головки, добре розділення фільтрату і промивних вод, достатня промивка і зневоднення осаду, можливість обробки важко фільтруючих матеріалів дякуючи досконалому способу знімання осаду і регенерації тканини (стрічкові вакуум-фільтри) [78].

Недоліками застосування даного обладнання є:

- ✓ мала швидкість фільтрування, громіздкість установки, ручна вигрузка осаду (відкритий нутч-фільтр);
- ✓ обмежена продуктивність, обумовлена тим, що виготовлення їх з великою фільтруючою поверхнею утруднене, оскільки апарати працюють під надлишковим тиском, громіздкість установки, ручна вигрузка осаду (закритий нутч-фільтр);
- ✓ невелика поверхня фільтрування і неповне використання фільтрувальної тканини, велика виробнича площа, яку займає фільтр, зношування стрічки (стрічкові вакуум-фільтри) [78].

Проаналізувавши інформацію видно, що спільними недоліками установок, що застосовують метод фільтрації, є громіздкість обладнання та мала продуктивність [78].

Центрифугування—процес розділення суспензій і емульсій в полі відцентрових сил. Під дією цих сил осадження поєднується з ущільненням утвореного осаду, а фільтрування—з ущільненням і механічною сушкою осаду [79].

Розрізняють наступні процеси розділення суспензій в центрифугах: відцентрове фільтрування та відцентрове відстоювання [79].

Відцентрове фільтрування представляє собою процес розділення суспензій в центрифугах з дірчастими барабанами. Внутрішня поверхня

такого барабану покрита фільтрувальною тканиною. Суспензія відцентровою силою відкидається до стінок барабану, при цьому тверда фаза залишається на поверхні тканини, а рідина під дією відцентрової сили проходить через шар осаду і тканини і видаляється назовні через отвори у барабані [80].

При допомозі відцентрового фільтрування може досягатися висока степінь зневоднення осаду [79].

Відцентрове відстоювання представляє собою процес розділення суспензій в центрифугах, які мають барабан з суцільними стінками. Суспензія вводиться в нижню частину барабану і під дією відцентрової сили відкидається до стінок. Безпосередньо біля стінок утворюється шар осаду, а рідина утворює внутрішній шар і витісняється з барабану поступаючою на розділення суспензією. Піднімаючись вгору, рідина переливається через край барабану і видаляється назовні [79].

Відцентрове освітлення також проводиться в суцільних барабанах і служить для очистки рідин, які містять незначну кількість твердої фази. Цей процес застосовується для розділення тонких суспензій і колоїдних розчинів [79].

Головна перевага використання центрифуг - висока продуктивність і компактність обладнання [79].

Отже, виходячи з вище представленої інформації, доцільно для процесу відділення біомаси від культуральної рідини використати саме центрифугування. Вибір пояснюється тим, що загалом центрифуги характеризуються високою продуктивністю та ефективністю розділення, а також компактністю обладнання.

3.1.3. Обґрунтування методів видалення білків з супернатанту

Метод осадження білка — це метод, який використовується для вилучення та очищення білків, які містяться в розчині. Великі складні молекули білків зазвичай мають частини, які мають негативний електричний заряд, і частини, які мають позитивний заряд, а також гідрофільні та гідрофобні частини. Білки в розчині мають тенденцію злипатися разом і

випадати в осад через тяжіння між негативно і позитивно зарядженими частинами молекул і взаємне тяжіння гідрофобних частин. Однак протидією цій тенденції є той факт, що у водному розчині полярні молекули води прагнуть розташуватися навколо білкових молекул через електростатичне притягання між протилежно зарядженими частинами води та білкових молекул. Це призводить до того, що білкові молекули тримаються окремо й залишаються в розчині, але існують різні способи досягнення їх видалення [80].

Обґрунтування способу осадження білків з супернатанту

Основна мета осадження білка - відокремити білок від розчину або для їх безпосереднього усунення, або для подальшого їх очищення. Залежно від розчинності та молекулярної структури білка ефективність різних методів осадження може бути різною [81].

Осадження білків може проходити за наступних способів:

- осадження при додаванні спиртів;
- висолюванням;
- осадження при додаванні кислот [81].

Використання спиртів для осадження. Додавання спирту до розчину зменшує гідратацію білка шляхом видалення води та навколишніх білків, що призводить до агрегації та випадання в осад. Щоб зберегти їх біологічні функції, важливо проводити експерименти при низькій температурі. Також необхідно контролювати рН розчину та концентрацію білка [81].

Найбільш часто використовуваними розчинниками є етанол, метанол і ацетон [81].

Висолювання білків. У водному розчині білкові молекули заряджені і гідратовані, що забезпечує стійкість білкових розчинів. При високій концентрації солей, йони яких теж гідратовані, відбувається руйнування водних оболонок білкових молекул у результаті конкуренції за воду йонів солей. Крім того, йони солей адсорбуються на поверхні білкової молекули,

унаслідок чого зменшується заряд білкової молекули, частинки білка менше відштовхуються, злипаються, випадають в осад [81].

Амоній сульфат має різко виражену висолуючу здатність і осаджує білки в нейтральному середовищі, а ще краще у слабкокислому. Інші солі, наприклад натрій хлорид, осаджують білки лише при підкисленні розчину [81].

Для висолювання різних білків потрібна різна концентрація одних і тих же солей. Отже, білки можна висолювати фракційно. Так, глобуліни випадають в осад при напівнасиченні розчину амоній сульфатом, а альбуміни осаджуються при повному насиченні [81].

Використання кислот для осадження. Цей метод заснований на зміні рН розчину. Кожен білок має певну ізоелектронну точку або значення рІ, невеликі зміни рН середовища впливають на структуру білка. Додавання кислоти до розчину знижує рН і призводить до позитивного заряду білка за рахунок захоплення протона аміногрупами. У водному розчині сфера гідратації, що оточує білок, порушується; виникає дисбаланс в структурі, що призводить до випадання осаду [81].

Найбільш популярною кислотою, яка використовується в цьому методі, є ТСА (трихлороцтова кислота), оскільки вона має високу реакційну здатність і може використовуватися в невеликих кількостях [81].

ТСА є аналогом оцтової кислоти, в якій три атоми водню метилового вуглецю були замінені атомами хлору. ТСА є відносно слабкою кислотою, тому вона не може гідролізувати пептидні зв'язки білків, але підтримує кислий рН у воді. Додавання ТСА до білків у водному розчині руйнує водневі зв'язки молекул води (сферу гідратації), що оточують білок. Ці білкові молекули більше не залишаються розчинними і можуть бути відновлені центрифугуванням [81].

Отже, для осадження білків обрано спосіб, який передбачає додавання кислот, а саме трихлороцтової кислоти. Вибір пояснюється тим, що за її використання забезпечується високий рівень виділення (менші втрати при

виробництві), а також трихлороцтова кислота має високу реакційну здатність і може використовуватися в невеликих кількостях.

Обґрунтування способу відділення осаду білків

Для відділення осаду білків використовується аналогічний метод, який було обрано в підрозділі 3.1.2, а саме центрифугування.

3.1.4. Обґрунтування способу концентрування вільного від білків супернатанту

Для концентрування вільного від білків супернатанту на сьогодні можуть бути застосовані наступні методи:

- мембранне розділення:
 - ультрафільтрація;
 - мікрофільтрація;
- випарювання.

До мембранних процесів розділення розчинів відносять зворотний осмос, ультрафільтрацію, мікрофільтрацію, діаліз, електродіаліз. Ці процеси одночасно очищують та концентрують розчин. Ступінь концентрування від 50 % до 250 % сухих речовин. Мембранні установки прості, невеликі за габаритами, економічні та легко автоматизуються. При ультрафільтрації затримуються молекули розмірами 5-50 нм, зворотного осмосу - 2-5 нм [11].

Ультрафільтрацією називають процес очищення та концентрування розчинів високомолекулярних з'єднань (наприклад, ферментів) з одночасним очищенням їх від низькомолекулярних домішок шляхом пропускання розчину через мембрану з порами розміром від 0,01 до 0,1 мкм. На відміну від мікрофільтрації або звичайної фільтрації при ультрафільтрації затримуються окремі молекули розчиненої високомолекулярної речовини; при ультрафільтрації відбувається не розділення фаз, а перерозподіл розчинених в рідкій фазі речовин. Тим часом проблема забивання пор фільтруючого матеріалу, характерна для звичайної фільтрації, має не менше, а можливо, і більше значення [82].

Важливою характеристикою будь-якої ультрафільтраційної мембрани є її селективність, що визначає ступінь затримання розчиненої речовини [82].

Селективність мембрани залежить від розмірів і форми молекул розчиненої речовини. Слід мати на увазі, що практично у всіх випадках існують молекули, що затримуються мембраною лише частково.

Мікрофільтрація - це процес, близький до звичайної фільтрації. Мікрофільтрація через пористі мембрани з діаметром пір від 0,1 до 10 мкм застосовується для відділення дрібних частинок твердої фази, зокрема мікроорганізмів (в цьому випадку її називають стерилізуючою фільтрацією). Завдяки великому числу пір на одиниці поверхні мембрани (кількість пір досягає 70—80% загального об'єму мембрани) процес мікрофільтрації протікає з достатньо високою швидкістю. Процес мікрофільтрації за звичаєм ведуть при різниці тиску 0,1—0,2 МПа [82].

Недоліки мембранного методів концентрування: ретельна підготовка та очищення розчину, виникнення концентраційної поляризації— підвищення концентрації розчиненої речовини біля поверхні мембрани та утворення значної кількості пермеатів, що вимагають очищення перед скиданням у каналізацію [82].

Випарювання – процес утворення парової фази, який відбувається в усій масі рідини і, головним чином, на межі між паровою бульбашкою і рідиною. Випарювання настає при температурі кипіння, при якій тиск насиченої пари рідини дорівнює зовнішньому тиску. Процес пароутворення до настання моменту кипіння називають випаровуванням [83].

Випарювання є тепловим процесом і його використовують для зневоднення розчинів, суспензій з метою концентрації твердої фази або розчиненої речовини. Процес випарювання проводять у випарних апаратах різної конструкції [83].

У мікробіологічній промисловості найбільш широко використовуються процеси випарювання у вакуумних установках (апаратах) як найбільш

економічний спосіб попереднього концентрування продуктів. Для кожного продукту біосинтезу, що концентрується, час перебування у випарному апараті при відповідній температурі визначається дослідним шляхом. На підставі дослідних даних вибирається відповідна конструкція випарного апарата, що забезпечує оптимальний час перебування середовища в апараті при заданій продуктивності при мінімальних витратах енергії [82, 83].

Отже, для концентрування вільного від білків супернатанту, який утворився на попередньому етапі, доцільно використовувати ультрафільтраційну установку, адже головною перевагою ультрафільтрації перед випарюванням є можливість на одному етапі і сконцентрувати розчин, і видалити з нього низькомолекулярні сполуки (невикористані компоненти (солі) поживного середовища, трихлороцтову кислоту).

3.1.5. Обґрунтування методів виділення екзополісахариду

Етапи виділення екзополісахариду є важливим у проектованому виробництві, адже від обраних та оптимізованих на цих етапах методів буде залежати ступінь чистоти екзополісахариду, можливість максимізації виходу субстанції, можливість забезпечити масштабованість виробництва, оптимізувати ефективність процесу, підтримувати послідовність і відтворюваність, а також відповідати нормативним вимогам готового продукту [84].

Обґрунтування способу осадження екзополісахариду

Для осадження екзополісахаридів використовують органічні розчинники, а саме:

- етанол;
- ізопропанол;
- ацетон.

Етанол (C_2H_5OH) є полярним розчинником, який змішується з водою. Він утворює водневі зв'язки з молекулами води, що робить його придатним для осадження екзополісахаридів із водних розчинів. Етанол зазвичай використовується для осадження екзополісахаридів із розчину через його

сильну здатність до осадження. Він може ефективно індукувати агрегацію та подальше осадження екзополісахаридів, у результаті чого утворюється концентрована полісахаридна фракція [85].

Ізопропанол (C_3H_8O) також є полярним розчинником, який змішується з водою. Він має властивості розчинника, подібні до етанолу, і може ефективно осаджувати екзополісахариди. Ізопропанол має подібну ефективність осадження з етанолом і часто використовується як альтернативний розчинник для осадження екзополісахаридів. Його ефективність в осадженні полісахаридів залежить від таких факторів, як концентрація та температура [86].

Ацетон (CH_3COCH_3) є полярним апротонним розчинником, який певною мірою змішується з водою. Його полярність і менша молекулярна маса роблять його менш ефективним, ніж етанол і ізопропанол, для осадження екзополісахаридів. Ацетон демонструє нижчу ефективність осадження порівняно з етанолом та ізопропанолом. Для досягнення порівнянних результатів при осадженні екзополісахаридів можуть знадобитися більш високі концентрації або додаткові етапи очищення [87].

Перевага методу осадження екзополісахаридів за допомогою етанолу або ізопропанолу полягає в тому, що він забезпечує збереження структури та властивостей екзополісахаридів. Оскільки етанол або ізопропанол забезпечують відновлення водні зв'язки між молекулами екзополісахаридів, цей метод не викликає денатурацію молекул екзополісахаридів, яка може змінювати їх структуру та властивості [88].

Крім того, цей метод може бути легко адаптований для використання з різними типами екзополісахаридів та з різними типами розчинів. Наприклад, можна змінювати співвідношення етанолу або ізопропанолу до розчину екзополісахаридів, а також час і температуру осадження, щоб досягти оптимальних умов для вилучення конкретного типу екзополісахаридів [88].

Отже, метод осадження екзополісахаридів за допомогою етанолу є простим, ефективним та невимогливим методом, який дозволяє отримати екзополісахариди високого ступеня чистоти.

Обґрунтування способу відділення осаду екзополісахариду

На даному етапі для відділення осаду екзополісахариду використовується аналогічний метод, який було обрано в підрозділі 3.1.3.2, а саме центрифугування.

3.1.6. Обґрунтування способу сушіння виділеного екзополісахариду

У процесі виробництва екзополісахаридів сушіння є важливим етапом, оскільки це дозволяє зберегти продукт у стабільному стані для подальшого зберігання та транспортування. Серед різних методів сушіння екзополісахаридів найбільш поширеними є сушіння розпилюванням, вакуумне сушіння та ліофілізація.

Сушіння за допомогою розпилювальної сушарки - це швидкий та економічно вигідний метод сушіння, за допомогою якого можна отримати сухі частинки порошку з бажаними властивостями, такими як хороша текучість, питомий вміст залишкової вологи та рівномірний розподіл форми та розміру. Цей процес можна розділити на чотири етапи. По-перше, рідкий продукт за допомогою механічних форсунок або розпилюючих високооберткових дисків диспергується на дрібні краплі. Потім утворений спрей стикається з нагрітим газом в сушильній камері. Третя фаза процесу сушіння розпиленням включає висушування крапель та утворення частинок. Після цього тверді частинки відокремлюються від сушильного повітря. В основному важкі частинки відокремлюються внаслідок гравітаційної сили, а дрібні частинки – за допомогою циклонів [88].

Перевагами цього методу сушіння є швидкість, безперервність процесу, відносна легкість організації та рентабельність процесу [89].

Недоліком даного способу сушіння являється контакт висушуваної речовини з високою температурою [89].

Ліофілізація - це процес висушування холодом з виморожуванням вологи у бактеріальних препаратах чи інших матеріалах. Цей процес можна розділити на 3 етапи: заморожування, первинна сушка та вторинна сушка. На першому етапі відбувається власне заморожування продукту при низьких температурах. На етапі первинної сушки заморожену воду видаляють сублімацією під вакуумом, а на вторинній стадії сушіння незамерзлу воду видаляють десорбцією. Метод ліофілізації дозволяє отримувати сухі тканини, препарати, продукти тощо без втрати їх структурної цілісності та біологічної активності. При ліофілізації більшість білків не піддається денатурації і може довго зберігатися при помірному охолодженні (близько 0°C). Ліофілізовані тканини і препарати при зволоженні відновлюють свої первинні властивості. Ліофілізацію застосовують при необхідності тривалого зберігання і консервування різних продуктів біологічного походження, для одержання сухої плазми донорської крові, сухих сироваток і вакцин, при трансплантації органів і тканин, у фармацевтичній і харчовій промисловості [90].

Переваги ліофілізації:

- збереження дисперсної фази;
- висушену продукт можна зберігати досить тривалий термін;
- відсутність впливу високих температур [90].

Недоліками ліофілізації є необхідність ретельної підготовки матеріалу до сушки, створення високого вакууму для повноти висихання, тривалість сушіння і досить високі енерговитрати [90].

Наступним способом висушування є вакуумна сушка. При її використанні зразки сушать шляхом випаровування рідини. Сушіння відбувається періодично, тобто у сушильну шафу на полиці закладають вологий матеріал, створюють вакуум, і починають обігрівання шафи парою через порожнини в плитах або електричним струмом. Процес закінчують коли матеріал матиме потрібну вологість, і після чого готовий сухий матеріал вивантажують [91].

Перевагами цього методу є :

- ✓ робота за нижчих температур у порівнянні з розпилювальною сушаркою;
- ✓ матеріал, який піддається висушуванню, не потребує спеціальної підготовки;
- ✓ тривалість сушіння і енерговитрати є меншими у порівнянні з ліофілізацією [91].

Отже, проаналізувавши способи висушування, найбільш доцільним є використання вакуумної сушки, оскільки, по-перше, відсутній вплив високих температур у порівнянні з розпилювальною сушкою і, по-друге, тривалість сушіння і енерговитрати є меншими у порівнянні з ліофілізацією.

Необхідності розчинення осаду екзополісахариду перед вакуумним сушінням немає, адже при роботі з осадом екзополісахариду вміст вологи зазвичай низький, а вакуумне сушіння може ефективно видалити воду, що залишилася, без необхідності розчинення. Також розчинення осаду перед висушуванням додає до процесу додатковий етап, що вимагає додаткових розчинників і часу для розчинення. Уникнення цього кроку може заощадити ресурси та зменшити загальний час обробки.

3.1.7. Обґрунтування методів очищення екзополісахариду

На сьогодні для очищення екзополісахаридів використовують наступні способи:

- Діаліз;
- Гель-фільтраційна хроматографія;
- повторне осадження органічними розчинниками.

Діаліз — це процес, який зазвичай використовується в різних галузях, включаючи біохімію та біотехнологію, для очищення та розділення молекул на основі їх розміру та інших фізичних властивостей. У той час як діаліз в основному використовується для видалення малих молекул, таких як іони та білки з малою молекулярною масою, від білків з більшою, його також можна використовувати для очищення екзополісахаридів. Процес діалізу передбачає використання напівпроникної мембрани, яка дозволяє проходити меншим

молекулам, утримуючи більші. Мембрана діє як бар'єр, який розділяє молекули залежно від їх розміру та заряду [92].

Гель-фільтраційна хроматографія - це форма роздільної хроматографії, яка використовується для розділення молекул різного молекулярного розміру. Цей метод також часто називають іншими назвами, включаючи гель-проникнення, гель-ексклюзію, розмір-ексклюзію та молекулярно-ситову хроматографію. Основний принцип гель-фільтрації досить простий. Молекули розподіляються між рухомою та нерухомою фазами (включаючи пористу матрицю з певною пористістю) як функцію їх відносних розмірів. Колонка, виготовлена з такої матриці, як правило, у формі кульок, матиме два вимірювані об'єми рідини: зовнішній об'єм, що складається з рідини між кульками, і внутрішній об'єм, що складається з рідини в кульках. Коли розчин екзополісахариду пропускається через колонку, заповнена пористою матрицею, молекули екзополісахариду виключаються з пор і елюються раніше, тоді як домішки затримуються в них довше [92].

Останнім з порівнюваних способів очищення екзополісахаридів є спосіб повторного осадження. Даний метод передбачає додавання до розчину, що містить екзополісахарид, органічного розчинника, що призводить до випадання екзополісахариду в осад, при чому інші домішки залишаються в розчині. Далі осад екзополісахариду збирають методом фільтрування та висушують [11].

Отже, для очищення екзополісахариду буде застосовано спосіб повторного осадження, адже він є менш дорогим та простішим у реалізації в промислових масштабах.

Обґрунтування етапу проведення процесу фільтрування розчину екзополісахариду

Етап фільтрування розчину екзополісахариду вирішує проблему видалення забруднюючих частинок та інших домішок з розчину. Це важливий етап, оскільки наступні етапи виробництва можуть бути ускладнені недостатньо чистим розчином. Принцип фільтрування полягає в

проходженні розчину через спеціальний матеріал, який затримує частинки більшого розміру та домішки [92].

Фільтрування має кілька переваг перед іншими методами очищення. По-перше, фільтрування не порушує структуру екзополісахариду, що дозволяє зберегти його функціональні властивості. По-друге, фільтрування ефективніше у видаленні забруднюючих частинок та домішок, оскільки вони затримуються в порах фільтру. По-третє, фільтрування забезпечує високу чистоту розчину, що дозволяє уникнути наступних проблем при наступних етапах виробництва [92].

Етапи повторного осадження екзополісахариду етанолом з наступною промивкою чистим етанолом для зневоднення і висушуванням проводяться за використання ідентичних методів описаних вище.

3.1.8. Обґрунтування способу подрібнення екзополісахариду

Після процесу сушіння екзополісахариду у вакуумній сушильній шафі на виході отримуємо суцільний твердий корж, що містить 10% води. Тому необхідною технологічною операцією є подрібнення даних коржів з метою отримання тонкодисперсного, стійкого порошку.

Подрібнення — це процес механічного дроблення твердого (або відносно твердого) матеріалу на частинки. Вибір способу подрібнення залежить від фізичних властивостей і розмірів матеріалу. Основна увага приділяється міцності матеріалу. Тверді та крихкі матеріали, такі як наприклад кристали цукру або сухі зерна, можна подрібнити шляхом розбивання або розтиранням. Пластичні матеріали – необхідно кутерувати [93].

Залежно від конструктивних особливостей основні дробильні машини поділяються на такі види: дробарка щокова, дробарка конусна, дробарка валкова, дробарка молоткова, дробарка барабанна; Стиральні та кульові млини, стрижневі млини, вібраційні млини, колоїдні млини тощо [101]. Далі розглянуто декілька найрозповсюджених машин для середнього та дрібного подрібнення.

Щоківі дробарки відносяться до групи машин з періодичним стисненням і вільним вивантаженням продукту під дією сили тяжіння. Вони складаються з двох розташованих під невеликим кутом поверхонь (щік), які сходяться в нижній частині [94].

Щоківі дробарки застосовуються для грубого і середнього подрібнення твердих і середньотвердих матеріалів. При подрібненні в'язких матеріалів використовується додаткове ковзання вібраційної балки, що полегшує розвантаження машини. Вони не займають багато місця і мають простий дизайн [94].

Молоткові дробарки. Для дрібного та тонкого подрібнення використовують молоткові дробарки, в яких процес подрібнення відбувається шляхом розбивання. У молотковій дробарці сировина подрібнюється ударами молотків, що обертаються, і ударом матеріалу об ребристу поверхню стінок корпусу. Матеріал вивантажується через сито, розмір отворів в якому визначає ступінь подрібнення матеріалу. Від швидкості руху молотків залежить ступінь подрібнення матеріалу. Кругова швидкість на кінцях молотків дробарок під час дроблення становить 70...90 м/с. Недоліком цих дробарок є те, що при подрібненні частина матеріалу може бути переподрібнена, що знижує якість кінцевого продукту [94].

Валкові дробарки. Валкові дробарки є одними з найпоширеніших машин для подрібнення в харчовій промисловості. Використовуються для середнього і тонкого подрібнення. Принцип роботи цих дробарок полягає в тому, що матеріал подається в дробарку живильником через завантажувальний бункер, захоплюється валками, що обертаються в протилежних напрямках з однаковою швидкістю, подрібнюється та вивантажується під дробарку. Циліндрична поверхня валків може бути гладкою, зубчастою, ребристою або рифленою. М'які та крихкі матеріали краще подрібнювати зубчастими валковими дробарками. Валкові дробарки мають просту конструкцію, займають мало місця в приміщенні і надійні в роботі, але малопродуктивні [94].

Тому для процесу подрібнення найкраще використовувати валкові дробарки, які найбільш ефективні на матеріалах середньої твердості. Завдяки своїй компактності та надійності в експлуатації вони мають переваги перед іншими. Завдяки одноразовому стиску матеріал не подрібнюється.

3.1.9. Обґрунтування способу та матеріалу пакування субстанції екзополісахариду

Упаковка - засіб або комплекс засобів, що захищає продукт (субстанцію) від пошкоджень і втрат, несприятливого впливу навколишнього середовища і забруднення, а також полегшує процес його обробки включаючи зберігання, транспортування і перевантаження. Основними компонентами упаковки є тара та пакувальні матеріали [95].

Основним призначенням упаковки при виконанні комерційних контрактів, у тому числі міжнародних, є запобігання пошкодженню товару під час транспортування. Крім того, мають бути створені оптимальні одиниці зберігання, транспортування, завантаження та розвантаження субстанції. Упаковка може виконувати й інші функції (наприклад, рекламу), які не настільки важливі для роздрібною торгівлі [95].

Тип упаковки в першу чергу визначається характером внутрішнього продукту (субстанції), зовнішніми впливами, яким може піддаватися матеріал, і часом, протягом якого продукт повинен знаходитися в упаковці. Очевидно, що останні фактори залежать від транспортного маршруту та використовуваних транспортних засобів, а також від завантаження та розвантаження [95].

Зважаючи на те, що синтезований екзополісахарид відноситься до достатньо гігроскопічної сировини, необхідною умовою при виборі упаковки є забезпечення герметичності з метою запобігання потрапляння вологи.

Визначаючи необхідний тип упаковки, слід враховувати спосіб розподілу вантажу. До упаковки товарів, які відправляються безпосередньо в точку продажу, часто застосовуються інші критерії, ніж до товарів, які мають

бути оброблені або переміщені кілька разів перед відправкою в точку продажу [95].

Для субстанції екзополісахариду може бути застосована наступна тара [95]:

- мішки;
- бочки.

Мішки економічно доцільні при транспортуванні насипних вантажів. Їх головна перевага полягає у відносно невеликій масі порівняно з вмістом і пов'язана з гнучкістю, легким наповненням і розвантаженням, мінімальними розмірами для зберігання та низькими виробничими витратами [95].

Незалежно від вибору відповідного мішка для транспортування вантажу, на зручність використання цієї тари значною мірою впливає принцип його зберігання, наповнення та розвантаження. Наприклад, крихкість паперових мішків призводить до їх розриву, що зазвичай відбувається через їхнє зберігання у занадто сухих навколишніх умовах. Такі мішки слід зберігати в місцях з підвищеною вологістю. Основні марки мішків, які наразі випускаються, наведені в табл. 3.1 [95].

Таблиця 3.1

Основні марки мішків [95]

Позначення	Опис	Сировина та матеріали, які можуть бути заповнені
НМ	Непросочені мішки з усіма шарами з непросоченого мішкового паперу	Негігроскопічна продукція
БМ	Бітумовані мішки з двома або трьома шарами бітумованого мішкового паперу і іншими шарами з непросоченого мішкового паперу	Малогігроскопічна продукція
ПМ	Ламіновані мішки з одним або двома шарами з ламінованого поліетиленом мішкового паперу і іншими шарами з непросоченого мішкового паперу	Сильно гігроскопічна продукція, харчові продукти, агресивні хімікати

БМП	Комбіновані мішки з одним шаром бітумованого мішкового паперу, одним шаром з ламінованого мішкового паперу і іншими шарами з непросоченого мішкового паперу	Сильно гігроскопічна продукція, агресивні хімікати, продукти, що не допускають попадання в них <i>Закінчення таблиці 3.1</i>
ВМБ	Комбіновані мішки з одним або двома шарами з вологостійкого мішкового паперу, одним або двома шарами з бітумованого мішкового паперу і іншими шарами з непросоченого мішкового паперу	Малогігроскопічна продукція, що транспортується в умовах підвищеної вологості

Бочки підходять для різних навантажень. Наприклад, в таку тару можна заливати рідини різної в'язкості, порошки або гранульовані хімікати. Бочки забезпечують хороший захист товарів і часто використовуються для транспортування легкозаймистих і корозійних вантажів [95].

Дана тара захищає вантаж від розпорошення і проникнення вологи і може бути стійкою по відношенню до водяної пари, створює перешкоду для розкрадань вантажів. Матеріалами для її виготовлення служить фібровий картон, паперові композити, дерево, фанера, сталь, алюміній, полімерні матеріали та ін. Тара може бути як зовнішньою, так і внутрішньою, одноразового і повторного використання. Існує ряд можливих способів для закриття зазначеної тари [95].

Отже, в якості упаковки для зберігання і транспортування субстанції екзополісахариду були обрані мішки, оскільки вони дешевші в порівнянні з бочками, характеризуються легкістю наповнення і розвантаження і мають мінімальні розміри, необхідні для зберігання. Вибрана марка БМП, оскільки ця марка мішків спеціально використовується для пакування сильно гігроскопічної сировини.

**РОЗДІЛ 4. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З
ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ
ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ**

Розподіл втрат по стадіях та підбір необхідного обладнання наведено у таблиці 4.1.

НУХТ БТЕК 02.02.09 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
					РОЗДІЛ 4. Підбір технологічного обладнання	Літ.	Арк.	Акрушів
<i>Розроб.</i>		<i>Качківська М.О.</i>					89	159
<i>Керівник</i>		<i>Пирог Т.П.</i>						90
<i>Консультант</i>						Кафедра БТМ		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

№ п/п	Назва стадії (операції)	Матеріальні потоки на стадії	Кількість по стадіях			Необхідне обладнання
			Надійшло	Втрати, (Разом 25%)	Вийшло	
1	2	3	4	5	6	7
Етапи виділення та очищення екзополісахариду						
Центрифугування культуральної рідини						
1	Центрифугування культуральної рідини	Біомаса	0,45 кг (500×0,9)- АСБ, з урахуванням 90% вологості 4,5 кг	0,135 кг (3%)	4,365 кг	На утилізацію
		Супернатант	495,5 л (500-4,5)	-	495,5 л	Збірник фугату об'ємом 600 л
Видалення білків з супернатанту						
2	Осадження трихлороцтовою кислотою	Супернатант	495,5 л	-	-	Реактор-змішувач об'ємом 600 л
		5% трихлороцтова кислота (0,2 об'єму екстрагенту до 1 об'єму фугату)	99,1 л (495,5 × 0,2)	-	-	

		Суспензія осаду білків	594,6 л (495,5 +99,1)		594,6 л	
3	Відділення осаду білків центрифугуванням	Суспензія осаду білків	594,6 л	-	594,6 л	-
		Білки	0,3 (594,6 – 594,3)	0,01 кг (3%)	0,29 (0,3 – 0,01)	На утилізацію
		Супернатант	-	-	594,3 л (594,6-0,29)	- (передається одразу на ультрафільтрацію)
4	Ультрафільтрація	Супернатант	594,3 л	-	-	
		Ультраконцентрат	59,4 л (концентрування у 10 разів)	1,18 л (2%)	58,22 (59,4-1,18)	Система ультрафільтрації Toray ULPRO 140-S
Виділення екзополісахариду						
5	Осадження ЕПС етанолом	Ультраконцентрат	58,22 л	-	-	
		Етанол	174,66 л	-	-	
		Суспензія осаду ЕПС	-	-	232,88 л	Реактор-змішувач об'ємом 400 л
6	Відділення осаду ЕПС центрифугуванням	Вологий осад ЕПС	9,42 кг (4,96+(4,96*0,9))	0,28 кг (3%)	9,14 кг (9,42-0,28)	(передається одразу на промивку)
		Водно-спиртова суміш (супернатант)	-	-	223,74	На регенерацію спирту
7	Зневоднення осаду ЕПС	Відділений вологий	9,14 кг	-	-	

	промивкою чистим етанолом	ЕПС				
		Етанол	9,14 кг	-	-	
		Промитий етанолом вологий осад ЕПС	7,21 кг (4,81+(4,81*0,5))	0,22 кг (3%)	6,99 кг (7,21-0,22)	- (передається одразу на сушіння)
8	Вакуумне сушіння	Промитий етанолом вологий осад ЕПС	6,99 кг	-	-	Шафа сушильна вакуумна
		Сухий ЕПС (вологість 10%)	-	-	4,67 кг (6,99-2,32)	- (передається одразу на розчинення)
Очищення екзополісахариду						
9	Розчинення ЕПС	Сухий ЕПС (вологість 10%)	4,67 кг	-	-	
		Деіонізована вода	23,35 кг	-	-	Пересувна ємність об'ємом 60 л
		Розчин ЕПС	28 кг (4,67+23,35 кг)	-	28 л	- (передається одразу на фільтрування)
10	Фільтрування розчину ЕПС	Розчин ЕПС	-	-	28 л	
		Осад	-	-	0,06 кг	На утилізацію
		Фільтрат	-	-	27,94 л	Пересувна ємність об'ємом 40 л
11	Повторне осадження ЕПС етанолом	Фільтрат	27,94 л	-	-	
		Етанол	83,82 л	-	-	
		Осаджений ЕПС	-	-	111,76 л	Реактор-змішувач

						об'ємом 160 л
12	Відділення осаду ЕПС центрифугуванням	Вологий осад ЕПС	8,87 кг (4,67+(4,67*0,9))	0,27 кг (3%)	8,6 кг (8,87-0,27)	(передається одразу на промивку)
		Водно-спиртова суміш (супернатант)	-	-	103,16	На регенерацію спирту
13	Зневоднення осаду ЕПС промивкою чистим етанолом	Відділений ЕПС	8,6 кг	-	-	
		Етанол	8,6 кг	-	-	
		Промитий етанолом вологий осад ЕПС	6,79 кг (4,53+(4,53*0,5))	0,2 кг (3%)	6,59 кг	- (передається одразу на розчинення)
14	Вакуумне сушіння	Промитий етанолом вологий осад ЕПС	6,59 кг	-	-	Шафа сушильна вакуумна
		Висушений ЕПС (вологість 10%)	-	-	3,97 кг (6,59-2,62)	- (до стадії подрібнення екзополісахариду)
Подрібнення екзополісахариду						
15	Подрібнення екзополісахариду	Висушений ЕПС (вологість 10%)	3,97 кг	-	-	Дробарка вальцева
		Подрібнений ЕПС	3,97 кг	0,12 кг (3%)	3,85 кг (3,97-0,12)	(до стадії фасування та маркування субстанції)
Фасування та маркування субстанції екзополісахариду						
16	Фасування та маркування субстанції екзополісахариду	Подрібнений ЕПС	3,85 кг	-	-	Фасувально-пакувальна машина
		Упакована субстанція ЕПС	3,85 кг	0,08 кг (2%)	3,77 (3,85-0,08)	(до стадії синтезу наночасток)

РОЗДІЛ 5. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання, зображеного на апаратурній схемі, наведена в табл. 5.1.

Таблиця 5.1

Специфікація ділянки виділення та очищення екзополісахариду

По зи ція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
РЗ-1	Реактор-змішувач для приготування розчину трихлороцтової кислоти	1	<p>Реактор об'ємом 160 л фірми «Діоніс» (Україна) (під замовлення). Технічні характеристики (під замовлення):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Номінальний об'єм корпусу, л: 160; - Робочий об'єм корпусу, л: 112; - Частота обертання мішалки, об / хв: плавно регульована від 0 до 200. - Встановлена потужність, при U = 380 В, кВт - Електродвигуна приводу: 3,5; - Матеріали виготовлення корпусу, кришки, мішалки: н / ж сталь 08X18H10T, (AISI 321). <p>URL: https://dionis.prom.ua/ua/p6491194-emalirovannyj-reaktor-11m3.html</p>
Н-2	Насос відцентровий	1	<p>Відцентровий насос DAB KPS 30/16 T (Україна). Модель відцентрового насоса, призначена для роботи в підтримці невеликих систем опалення та водопостачання житлових приміщень та промислових підприємств.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Технічні характеристики: • Номінальна робоча температура: від -10° С до +50 °С • Продуктивність, Q: 2,16 м³/год • Напір, Н: 32,5 м • Потужність, кВт: 0,37 • Тиск, бар: 10 • Напруга, В: 380 • Клас захисту: IP 44 • Приєднання: різьба. <p>URL: https://ovk.ua/ua/shop/product/dab-kps-30-16-t</p>

НУХТ БТЕК 02.02.09 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання	Літ.	Арк.	Акрушів
Розроб.	Качківська М.О.					94	159	95
Керівник	Пирог Т.П.					Кафедра БТМ		
Консультант								
Н. Контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.							

CE-3	Система деіонізації	1	<p>Система для деіонізації води arium® 615DI004.</p> <p>Технічні характеристики:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Матеріал конструкції: пластик; • Максимальна продуктивність, <ul style="list-style-type: none"> ○ при 10° dH: 840; ○ при 20° dH: 420. • Габарити, мм: <ul style="list-style-type: none"> ○ висота: 400; ○ діаметр: 230. • Робочий тиск: <ul style="list-style-type: none"> ○ макс., бар: 6; ○ мин., бар: 0,5. <p>URL: https://sartorius.com.ua/sistemi-laboratornoyi-vodopidgotovki-arium/sistema-dlya-deionizacziyi-vodi-arium-615di/</p>
3-4, 3-5, 3-11	Збірник	3	<p>Збірник об'ємом 630 л фірми «Діоніс» (Україна) (під замовлення).</p> <p>Корпус збірника являє собою вертикальну циліндричну посудину з псевдоеліптичним дном і кришкою. Поточна температура в корпусі збірника відображається в цифровому вигляді на дисплеї термостата.</p> <p>Об'єм завантаженого компонента можна контролювати за допомогою цифрового індикатора «Об'єм продукту» з роздільною здатністю 100 мл, встановленого на пульті управління і підключеного до «Датчика тиску УТ-11», розташованого в днищі реактора (Датчик тиску УТ-11 спочатку запрограмований на вимірювання об'єму води). Манометричний датчик в асептичному виконанні та пристрій візуалізації даних (контролер) від відомої німецької компанії WIKA.</p> <p>URL: https://dionis.prom.ua/ua/p6491194-emalirovannyj-reaktor-11m3.html</p>
ПН-6, ПН-8, ПН-10, ПН-12, ПН-14, ПН-16	Перистальтичний насос	6	<p>Перистальтичний насос високого тиску серії FPSH - промислова серія насосів, розрахованих на цілодобову роботу. При використанні цих насосів для горизонтальної подачі довжина горизонтальної напірної лінії може бути від 400 до 3000 м.</p> <p>Технічні характеристики (під замовлення):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Продуктивність: до 3 м³ / год • Температура: макс.90 °С • Тиск: макс. 15 бар • Матеріали: корпус: високоміцний чавун; шланги: NR, NBR, EPDM, Nupalon і ін. <p>Розміри: діаметр шлангів: від 1/4 до 5.</p> <p>URL:https://ascopumps.com.ua/ua/pumps/peristalticheskie/serii_vph.html</p>
РЗ-7	Реактор-змішувач	1	<p>Реактор об'ємом 630 л фірми «Діоніс» (Україна).</p> <p>Технічні характеристики (під замовлення):</p>

			<ul style="list-style-type: none"> - Номінальний об'єм корпусу, л: 630; - Робочий об'єм корпусу, л: 504; - Частота обертання мішалки, об / хв: плавно регульована від 0 до 500. - Встановлена потужність, при U = 380 В, кВт - Електродвигуна приводу: 3,5; - Матеріали виготовлення корпусу, кришки, мішалки: н / ж сталь 08X18H10T, (AISI 321). <p>URL: https://dionis.prom.ua/ua/p6491194-emalirovannyj-reaktor-11m3.html</p>
Ц-9, Ц-15, Ц-21, Ц-33	Центрифуга	4	<p>Високошвидкісна проточна центрифуга 160 GPH.</p> <p>Технічні характеристики:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Швидкість обертання барабана (об/хв): до 20000. • Макс. відцентрова сила, g: 17000. • Ємність чаші, л: 2,25. • Пропускна здатність води, л/год: 600. • Двигун: 1,5 кВт. <p>URL: https://usfiltermaxx.com/en/home/177-high-speed-cylinder-centrifuge.html</p>
РЗ-13	Реактор-змішувач	1	<p>Реактор об'ємом 1 м³ фірми «Діоніс» (Україна).</p> <p>Технічні характеристики (під замовлення):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Номінальний об'єм корпусу, л: 1000; - Робочий об'єм корпусу, л: 800; - Частота обертання мішалки, об / хв: плавно регульована від 0 до 500. - Встановлена потужність, при U = 380 В, кВт - Електродвигуна приводу: 3,5; - Матеріали виготовлення корпусу, кришки, мішалки: н / ж сталь 08X18H10T, (AISI 321). <p>URL: https://dionis.prom.ua/ua/p6491194-emalirovannyj-reaktor-11m3.html</p>
УФ-17	Система для ультрафільтрації	1	<p>Sartoflow® Advanced TFF система. Sartoflow® Advanced — це модульна настільна система фільтрації тангенціального потоку (TFF), оптимізована для ультрафільтрації та діафільтрації, що використовується в багатьох подальших процесах, таких як очищення вакцин, моноклональних антитіл і рекомбінантних білків. Система підходить для гнучкого використання в лабораторних умовах для розробки процесів і клінічних випробувань, а також для виробництва малих серій cGMP.</p> <p>Технічні характеристики:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Площа мембрани: 0.1 – 0.21 м²; • Об'єм резервуару: 10 л; • Швидкість потоку: 700 л/год; • Рівень автоматизації: повний; <p>URL: https://www.sartorius.com/en/products/process-filtration/tangential-flow-filtration/tff-systems/sartoflow-advanced</p> <p>Тримач Sartoflow® 10 з нержавіючої сталі з</p>

			<p>гідралічним приводом призначений для застосування в TFF об'ємом від 30 л до 1000 л. Тримач оптимізований для використання до десяти Sartocoon® або двох Sartocube® виробничих касет TFF (макс. 7 м²). Типовим застосуванням тримача Sartoflow® 10 є концентрація та діалільтрація білків, вакцин, антитіл, олігонуклеотидів, видалення ендотоксинів тощо, а також процеси збирання та очищення клітин.</p> <p>URL: https://www.sartorius.com/shop/ww/en/eur/products-bioprocess-crossflow-holders-%26-systems/sartoflow10%2c-1-4435-f-r22%2c1-p15%2c7%2c-zoll%2c-e-polished/p/179-6DZ221157E</p> <p>У даній установці будуть використовуватись з мембранами PES - це мембранний полімер, який добре зарекомендував себе в біотехнологічній та фармацевтичній промисловості. Це стабільний полімер із широким діапазоном рН і температур. Мембрани PES призначені для використання в біотехнічній та фармацевтичній промисловості.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Стабільний полімер із широким діапазоном рН і температур • Мінімальна адсорбція білків, вірусів та ін. • Регенерацію, зберігання та депірогенізацію мембран можна здійснити за допомогою NaOH навіть при підвищених температурах • Багаторазове повторне використання не впливає на збереження мембрани. <p>Ультрафільтраційні касети PES доступні з такими обмеженнями молекулярної маси: PES Max, 1 кДа, 5 кДа, 8 кДа, 10 кДа, 30 кДа, 50 кДа, 100 кДа, 300 кДа (для полісахаридів).</p> <p>URL: https://www.sartorius.com/shop/ww/en/eur/products-process-filtration-and-purification/polyethersulfone-ultrafilter/p/M_Polyethersulfone_Ultrafilter</p>
<p>ПН - 18, ПН - 28, ПН - 30, ПН -32</p>	<p>Перистальтичний насос</p>	<p>4</p>	<p>Насос низького тиску серії TF-RM. Перистальтичні насоси Valisi поєднують в собі кращі матеріали і просте дизайнерське рішення для збільшення терміну експлуатації і зменшення часу, необхідного для технічного обслуговування. Технічні характеристики (під замовлення):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Продуктивність: до 100 л / год • Температура: макс.100 °С • Тиск: макс. 2 бар • Матеріали: корпус: високоміцний чавун; шланги: NR, NBR, EPDM, Nupalon і ін. <p>URL: https://ascopumps.com.ua/ua/pumps/peristalticheskie/serii_tf-rm.html</p>
<p>РЗ-</p>	<p>Реактор-</p>	<p>1</p>	<p>Реактор об'ємом 400 фірми «Діоніс» (Україна).</p>

19	змішувач		<p>Технічні характеристики (під замовлення):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Номінальний об'єм корпусу, л: 400; - Робочий об'єм корпусу, л: 320; - Частота обертання мішалки, об / хв: плавно регульована від 0 до 500. - Встановлена потужність, при U = 380 В, кВт - Електродвигуна приводу: 2,5; <p>Матеріали виготовлення корпусу, кришки, мішалки: н / ж сталь 08X18H10T, (AISI 321). URL: https://dionis.prom.ua/ua/p6491194-omalirovannyj-reaktor-11m3.html</p>
ПН-20	Перистальтичний насос	1	<p>Насос середнього тиску серії N. Насоси Valisi серії N характеризуються надзвичайною плавністю перекачування продукту, запобігаючи таким чином утворення емульсії або турбулентність. Технічні характеристики (під замовлення):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Продуктивність: до 500 л / год • Температура: макс.100 °С • Тиск: макс. 7 бар <p>Матеріали: корпус: високоміцний чавун; шланги: NR, NBR, EPDM, Nupalon і ін. URL: https://ascopumps.com.ua/ua/pumps/peristalticheskie/serii_n.html</p>
Є-22, Є-24, Є-26, Є-34, Є-36, Є-38, Є-40	Ємність пересувна	7	<p>Ємність технологічна з герметичною кришкою з нержавіючої сталі AISI 316, 304, 430.</p> <p>Ємність технологічна з герметичною кришкою використовується для багаторазового зберігання, транспортування, участі в технологічному процесі рідких і твердих видів продуктів. Об'єм - 20 л. URL: https://prom.ua/ua/p709730148-yemnist-tehnologichna-germetichnoyu.html?utm_source=google_product&utm_medium=cpc&utm_content=pla&utm_campaign=KT_cpc_05_1&gclid=Cj0KCQjwj_ajBhCqARIsAA37s0wLRd-nHZlCkjfXlxbfaSweYNplrZaHs0JYweM7nZ4hNvft2kT1b4IaAhU6EALw_wcB</p>
РЗ-23, РЗ-27, РЗ-35	Реактор-змішувач	3	<p>Реактор об'ємом 40 фірми «Діоніс» (Україна). Технічні характеристики (під замовлення):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Номінальний об'єм корпусу, л: 40; - Робочий об'єм корпусу, л: 28; - Частота обертання мішалки, об / хв: плавно регульована від 0 до 100. - Встановлена потужність, при U = 380 В, кВт - Електродвигуна приводу: 1,5; <p>Матеріали виготовлення корпусу, кришки, мішалки: н / ж сталь 08X18H10T, (AISI 321). URL: https://dionis.prom.ua/ua/p6491194-omalirovannyj-reaktor-11m3.html</p>

BC - 25, BC -37	Вакуумна сушильна шафа	2	<p>Вакуумна сушильна шафа СВ-30. Використання вакуумних сушильних шаф НВ-30:</p> <ul style="list-style-type: none"> • автоматичне регулювання та підтримання температури; • мікропроцесорний PID-контролер із РК-дисплеєм, дає змогу зберігати в пам'яті до 9 програм; • вбудований програмний таймер до 999 хвилин; • цифрове настроювання температури з точністю в один градус; • вбудований аналоговий вакуумметр; • штуцер для під'єднання до вакуумного насоса. <p>Технічні характеристики:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Об'єм, л: 33; • Мінімальна температура нагрівання, °С: <i>кімнатна +5 °С</i>; • Максимальна температура нагрівання, °С: 200 °С; • Номінальна напруга, В: 220; • Потужність, Вт: 900. <p>URL: https://uoslab.com/sushylne-obladnannia/vakuumni-shafy/vakuumnyj-sushilnyj-shkaf-sv-30</p>
Д Ф- 29	Друк-фільтр	1	<p>Друк-фільтр марки ДСЕВ 0,3-11-12-01 компанії ТОВ "ГК ЕВРОХІММАШ К.О." (Україна).</p> <p>Технічні характеристики:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Поверхня фільтрації, м²: 0,3; • Об'єм, м³: 0,06; • Робочий надлишковий тиск, МПа (кгс/см²): розрідження із залишковим тиском не нижче - 0,04 (4,0). • Допустима температура стінки в корпусі, °С: від -20 до +200. <p>URL: http://euromash.kiev.ua/ua/druk_filtr_ua.php</p>
РЗ- 31	Реактор- змішувач	1	<p>Реактор об'ємом 160 фірми «Діоніс» (Україна).</p> <p>Технічні характеристики (під замовлення):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Номінальний об'єм корпусу, л: 160; - Робочий об'єм корпусу, л: 112; - Частота обертання мішалки, об / хв: плавно регульована від 0 до 200. - Встановлена потужність, при U = 380 В, кВт - Електродвигуна приводу: 2,0; <p>Матеріали виготовлення корпусу, кришки, мішалки: н / ж сталь 08Х18Н10Т, (AISI 321).</p> <p>URL: https://dionis.prom.ua/ua/p6491194-emalirovannyj-reaktor-11m3.html</p>
ДР -39	Валкова дробарка	1	<p>Валкова дробарка виробництва компанії «ХімМікс» (Україна).</p> <p>Основні технічні характеристики (під замовлення):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Максимальний розмір грудочки- до 280 мм;

			<ul style="list-style-type: none"> - Максимальна потужність - 30 кг/год; - Кінцевий розмір часточок - 0,5 – 20 мм; - Вага - 350 кг; - Асептичні умови - GMP сумісний, СІР через автоматичний витяг ролика; - Матеріал, що контактує з продуктом - 1.4462; 1.4404; - Ударний тиск - 10 Бар; - Ущільнення - Силікон, РТФЕ. <p>URL: https://khimmix.ua/izmelchiteli/volkovaya-drobilka</p>
Ф ПВ -41	Фасувально-пакувальна машина	1	<p>Фасувальний автомат сипучих продуктів 10-1000 г.</p> <p>Технічні характеристики:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Живлення - 220 В • Потужність - 400 Вт. • Продуктивність 10-20 пакетів в хвилину. • Використання пакетиків шириною до 15 см, висотою до 20 див (є модифікації на ширину до 25 см і висоту до 40 см). • При замовленні потрібно вказати які пакетики потрібно запаювати - саше (3-шовні) або з задньої запаювання. • Максимальна похибка вимірювання упаковки - 0,5 мм. • Низький рівень шуму. • Вага установки 130 кг. • Додатково комплектується принтером-датою. <p>URL: https://agro-teh.com.ua/ua/p643306809-fasovochnyj-avtomat-sypuchih.html</p>

РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ЛЗ

Технологічна схема виділення та очищення екзополісахариду включає допоміжні роботи (приготування 5%-го розчину трихлороцтової кислоти та підготовка деіонізованої води) та технологічний процес (центрифугування культуральної рідини, Видалення білків з супернатанту (осадження трихлороцтовою кислотою, відділення осаду білків центрифугуванням, ультрафільтрація), виділення екзополісахариду (осадження ЕПС етанолом, відділення осаду ЕПС центрифугуванням, зневоднення осаду ЕПС промивкою чистим етанолом, вакуумне сушіння), очищення екзополісахариду (розчинення ЕПС, фільтрування розчину ЕПС, повторне осадження ЕПС етанолом, відділення осаду ЕПС центрифугуванням, зневоднення осаду ЕПС промивкою чистим етанолом, вакуумне сушіння), подрібнення екзополісахариду та фасування та маркування субстанції екзополісахариду).

Технологічну схему виділення та очищення наведено у графічній частині проекту.

ДР 1. Приготування допоміжних розчинів.

ДР 1.1. Приготування 5%-го розчину трихлороцтової кислоти.

На технічних вагах у попередньо відтарованій тарі зважують 4,95 кг кристалів трихлороцтової кислоти. Наважки вносять в реактор-змішувач (РЗ-1) об'ємом 160 л, та додають 94,2 л води водопровідної. Після цього вмикають мішалку, якою обладнаний реактор, та перемішують ($n = 50$ об/хв) за температури 40 °С до повного розчинення кристалів кислоти.

ДР 2. Підготовка води деіонізованої.

ДР 2.1. Деіонізація води.

НУХТ БТЕК 02.02.09 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
					РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення субстанції		
Розроб.		Качківська М.О.			Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Пирог Т.П.				101	159
Консультант					Кафедра БТМ		
Н. Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					

Вода з міського водопроводу за допомогою відцентрового насосу (Н-2) подається до системи деіонізації (СЕ-3). На СЕ-3 деіонізація відбувається на іоннообмінних смолах. Питомий опір води на даному етапі після проведення процесу становить 18 МОм·см. Після процесу деіонізації вода поступає в збірник (З-4) для подальшої її використання на стадії ТП 7.1 (для розчинення екзополісахариду).

ТП 3. Зберігання культуральної рідини.

ТП 3.1. Охолодження культуральної рідини.

На даному етапі культуральна рідина з виробничого ферментера (після етапів біосинтезу) по трубопроводах за допомогою перистальтичного насосу (ПН-6) поступає до реактора-змішувача (РЗ-7) на її тимчасове зберігання перед використанням. Для забезпечення належних умов зберігання культуральної рідини її температура підтримується в межах 8-10 °С за допомогою сорочки, якою обладнаний реактор.

ТП 4. Відділення біомаси бактерій.

ТП 4.1. Центрифугування культуральної рідини.

З реактора-змішувача (РЗ-7) культуральна рідина за допомогою перистальтичного насосу (ПН-8) направляється до центрифуги (Ц-9) для процесу її розділення на супернатант та біомасу біологічного агента (відправляються на знешкодження). Процес центрифугування здійснюється за таких параметрів: швидкість обертання ротора 5000-6000 об./хв, процес триває протягом 20 хв. Отриманий супернатант по трубопроводах за допомогою перистальтичного насосу (ПН-10) направляється до збірника супернатанту (З-11) звідки далі подається на наступний етап.

ТП 5. Видалення білків з супернатанту.

ТП 5.1. Осадження білків трихлороцтовою кислотою.

Зі збірника супернатанту (З-11), отриманий на попередньому етапі супернатант, по трубопроводах за допомогою перистальтичного насосу (ПН-12) направляється до реактора-змішувача (РЗ-13), який обладнаний мішалкою та тепловою сорочкою, і туди ж подається 5%-вий розчин

трихлороцтової кислоти від ДР 1.1 для здійснення процесу осадження білків. Параметри процесу: температура - 37 °С, періодичне перемішування - 90 об/хв, тривалість процесу - 30-40 хв. Утворена на даному етапі суспензія осаду білків відправляється по трубопроводах за допомогою перистальтичного насосу (ПН-14) на наступний етап технологічного процесу.

ТП 5.2. Відділення білків центрифугуванням.

З реактора-змішувача (РЗ-13) суспензія осаду білків за допомогою перистальтичного насосу (ПН-14) направляється до центрифуги (Ц-15) для процесу її розділення на супернатант та осаджені білки (відправляються на знешкодження). Процес центрифугування здійснюється за таких параметрів: швидкість обертання ротора 8000 об./хв, процес триває протягом 30 хв. Отриманий супернатант по трубопроводах направляється на наступний етап.

ТП 5.3. Ультрафільтрація.

Супернатант, отриманий на попередній стадії, по трубопроводах за допомогою перистальтичного насосу (ПН-16) направляється на установку ультрафільтрації (УФ-17), де супернатант концентрується у 10 разів. Утворений на даному етапі ультраконцентрат по трубопроводах за допомогою перистальтичного насосу (ПН-18) направляється на наступний етап.

ТП 6. Виділення екзополісахариду.

ТП 6.1. Осадження ЕПС етанолом.

Ультраконцентрат, отриманий на попередньому етапі, по трубопроводах за допомогою перистальтичного насосу (ПН-18) направляється до реактора-змішувача (РЗ-19), куди додатково по трубопроводах подається абсолютний етанол зі збірника (З-5). Далі за періодичного перемішування ($n = 100$ об/хв) протягом 24-48 годин при температурі 4°С спостерігається утворення осаду екзополісахариду. Суспензія осаду екзополісахариду, що утворилась, за допомогою перистальтичного насосу (ПН-20) направляється на наступні етапи виділення.

ТП 6.2. Відділення осаду центрифугуванням.

З реактора-змішувача (РЗ-19) суспензія осаду екзополісахариду за допомогою перистальтичного насоса (ПН-20) направляється до центрифуги (Ц-21) для процесу її розділення на вологий осад екзополісахариду та водно-спиртову суміш (відправляються на регенерацію спирту). Процес центрифугування здійснюється за таких параметрів: швидкість обертання ротора 8000 об./хв, процес триває протягом 30 хв. Отриманий вологий осад екзополісахариду завантажується в пересувну ємність (Є-22) та направляється на наступний етап.

ТП 6.3. Зневоднення осаду ЕПС промивкою чистим етанолом.

Вологий осад екзополісахариду завантажується з пересувної ємності до реактора-змішувача (РЗ-23), куди додатково зі збірника (З-5) по трубопроводах подається абсолютний етанол з метою проведення процесу його зневоднення. Параметри процесу: періодичне перемішування – 100 об/хв, процес триває 20-30 хв. Після даного процесу промитий етанолом вологий осад екзополісахариду у закритій пересувній ємності (Є-24) транспортується на етап сушіння.

ТП 6.4. Вакуумне сушіння.

Отриманий на попередньому етапі вологий осад екзополісахариду піддають сушінню у вакуумній сушарці (ВС-25). Процес закінчують, коли матеріал матиме залишкову вологість 10%, після чого готовий сухий матеріал вивантажують у пересувну ємність (Є-26). Отриманий сухий екзополісахарид транспортується у закритій пересувній ємності далі на етап очищення. Параметри процесу: температура сушіння 40-60 °С, тривалість сушіння 10 год, тиск 0,4 МПа.

ТП 7. Очищення екзополісахариду.

ТП 7.1. Розчинення ЕПС.

Сухий екзополісахарид, отриманий на попередньому етапі, завантажують до реактора-змішувача (РЗ-27), та додатково у ролі розчинника вносять деіонізовану воду зі збірника (З-4). Процес розчинення проводять

при перемішуванні частотою 150 об/хв, протягом 2-3 годин за температури 40-45°C. Далі отриманий розчин екзополісахариду по трубопроводах за допомогою перистальтичного насосу (ПН-28) направляється на фільтрування.

ТП 7.2. Фільтрування розчину ЕПС.

Розчин екзополісахариду, отриманий на попередньому етапі, по трубопроводах за допомогою перистальтичного насосу (ПН-28) направляється до друк-фільтру (ДФ-29). Отриманий на даному етапі фільтрат направляється по трубопроводах на повторне осадження ЕПС етанолом.

ТП 7.3. Повторне осадження ЕПС етанолом.

Фільтрат від ТП 7.2 за допомогою перистальтичного насосу (ПН-30) по трубопроводах направляється до реактора-змішувача (РЗ-31), куди додатково вноситься розчин абсолютного етанолу зі збірника (З-5). Далі за періодичного перемішування ($n = 100$ об/хв) протягом 24-48 годин при температурі 4°C спостерігається утворення осаду екзополісахариду. Суспензія осаду екзополісахариду, що утворилась, за допомогою перистальтичного насосу (ПН-32) направляється на наступні етапи очищення

ТП 7.4. Відділення осаду центрифугуванням.

З реактора-змішувача (РЗ-31) суспензія осаду екзополісахариду за допомогою перистальтичного насосу (ПН-32) направляється до центрифуги (Ц-33) для процесу її розділення на вологий осад екзополісахариду та водно-спиртову суміш (відправляються на регенерацію спирту). Процес центрифугування здійснюється за таких параметрів: швидкість обертання ротора 8000 об./хв, процес триває протягом 30 хв. Отриманий вологий осад екзополісахариду завантажується в пересувну ємність (Є-34) та направляється на наступний етап.

ТП 7.5. Зневоднення осаду ЕПС промивкою чистим етанолом.

Вологий осад екзополісахариду завантажується з пересувної ємності до реактора-змішувача (РЗ-35), куди додатково зі збірника (З-5) по трубопроводу подається абсолютний етанол з метою проведення процесу

його зневоднення. Параметри процесу: періодичне перемішування – 100 об/хв, процес триває 20-30 хв. Після даного процесу промитий етанолом вологий осад екзополісахариду направляється у закритій пересувній ємності (Є-36) на етап сушіння.

ТП 7.6. Вакуумне сушіння.

Отриманий на попередньому етапі вологий осад екзополісахариду піддають сушінню у вакуумній сушарці (ВС-37). Процес закінчують, коли матеріал матиме залишкову вологість 10%, після чого готовий сухий матеріал вивантажують у пересувну ємність (Є-38). Отриманий сухий екзополісахарид транспортується у закритій пересувній ємності на етап подрібнення. Параметри процесу: температура сушіння 40-60 °С, тривалість сушіння 10 год, тиск 0,4 МПа.

ТП 8. Подрібнення екзополісахариду.

ТП 8.1. Подрібнення екзополісахариду на валковій дробарці.

Отриманий сухий екзополісахарид у вигляді тонких коржів подрібнюють на валковій дробарці (ДР-39). Отримана субстанція екзополісахариду вивантажують у пересувну ємність (Є-40) та транспортують на етап фасування та маркування.

ПМВ 9. Фасування та маркування.

ПМВ 9.1. Фасування та пакування субстанції екзополісахариду.

Фасування та маркування в упаковку (мішки, які перешкоджають потраплянню вологи при транспортуванні та зберіганні) здійснюється автоматично за допомогою фасувально-пакувальної машини (ФПМ-38). Запаковані пакети, що містять по 250 г субстанції екзополісахариду (15 пакетів за один цикл) відправляється у складське приміщення.

ЗВ 10. Знешкодження відходів.

ЗВ 10.1. Знешкодження рідких відходів.

Знешкодження рідких відходів здійснюється за використання біологічної очистки – аеротенків. Аеротенк - це резервуар прямокутного

перетину глибиною 3-6 м, виконаний з металу, монолітного або збірного залізобетону або пластмаси.

Перед подачею стічних вод для очищення до аеротенків необхідно довести їх рН до значення 6,5 – 7,5, для унеможливлення інактивації активного мулу, і як результат, недостатньої очистки. Цей процес буде здійснюватися за використання розчину гідроксиду натрію.

Використовуються аеротенки-витискувачі, у передню частину якого подаються вода й намул, а суміш виводиться в кінці. У таких аеротенках можна досягти високої глибини очищення, однак при залповому надходженні забруднюючих речовин, що зазвичай характерно для виробничих стоків, активний мул виявляється перевантаженим, втрачає свою активність, спухає і виноситься з вторинних відстійників. Але так як об'єми рідких відходів є порівняно невеликими ця загроза є малою.

Установка працює таким чином: стічну воду подають у первинний відстійник води, де виводяться збурені частинки забруднювальної речовини.

Для покращання осаджування сюди подається частина надлишкового намулу. Після освітлення вода надходить до передаератора. Сюди ж скеровують частину надлишкового намулу із вторинного відстійника, де стічні води попередньо аеруються повітрям протягом 15—20 хв. За необхідності у передаератор можна вводити нейтралізуючі добавки та живильні речовини.

Із передаератора стічна вода подається в аеротенк, через який циркулює й активний намул. Біохімічні процеси в аеротенку протікають у два етапи: адсорбція поверхнею активного намулу органічних речовин і мінералізація легкоокислювальних речовин при інтенсивному споживанні кисню; доокислення повільноокислювальних органічних речовин і регенерація активного намулу. На цьому етапі кисень споживається досить повільно.

Аеротенк поділяється на дві частини: регенератор (25 % від загального об'єму) й аеротенк, в якому відбувається основний процес очищення.

Наявність регенератора дає можливість очищати більш концентровані стічні води і збільшити продуктивність агрегату.

Потім стічна вода з намулом надходить до вторинного відстійника, де намул відокремлюється від води. Більша частина намулу повертається до аеротенка, а його надлишок спрямовують у передаератор.

Так як бактеріальна маса, яка залишилась після центрифугування, а також осаджені білки, містять велику кількість поживних речовин білкової природи, пропонується утилізувати її як біодобавку до кормів.

Процес приготування білкової добавки буде виглядати так:

- 1) біомаса змішується з зерновою сировиною;
- 2) екструдування за температури 110-130°C протягом 1-2 хв;
- 3) охолодження до температури близько 10°C;
- 4) подрібнення до необхідного розміру за рецептом відповідного комбікорму [96].

РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Основними показниками, які контролюють протягом процесу виділення та очищення екзополісахариду (ЕПС), є:

- ✓ визначення вмісту загального білка з метою підтвердження ефективності проведених процесів на етапі видалення білків з супернатанту;
- ✓ визначення вмісту екзополісахариду у супернатанті на етапах виділення та очищення;
- ✓ визначення молекулярної маси та складу виділеного та очищеного екзополісахариду;
- ✓ визначення вологості субстанції виділеного та очищеного екзополісахариду.

7.1. Визначення вмісту загального білка

Вміст білка в супернатанті, що містить екзополісахарид, визначають методом Бредфорда [96-98].

Принцип методу: Метод полягає в додаванні барвника до розчину білка та вимірювання оптичної густини. Отримані значення порівнюють з калібрувальною кривою, побудованою по білку з відомою концентрацією, найчастіше по бичачому сироватковому альбуміну (БСА) [96, 97].

Барвник Coomassie Brilliant Blue R-250 при розчиненні у фосфорній кислоті має червоно-коричневе забарвлення (аніонна форма), але при зв'язуванні з аргініном та гідрофобними амінокислотними залишками білка утворюється блакитне забарвлення ($\lambda_{\max} = 595$ нм, катіонна форма). Таким чином, збільшення абсорбції розчину при довжині хвилі, що дорівнює 595 нм, пропорційно кількості білка в розчині [97, 98].

Матеріали та обладнання:

					НУХТ БТЕК 02.02.09 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Качківська М.О.			РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва субстанції для лікарського засобу	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Пирог Т.П.					109	158
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Спектрофотометр, кювети, розчин БСА (10 мг/мл), розчин, що досліджується, барвник Coomassie Brilliant Blue R-250, ортофосфорна кислота [97].

Необхідні реагенти:

1. Реагент Бредфорда. На 1л: 100 мг Coomassie Brilliant Blue розчиняють в 50 мл спирту і додають 100 мл ортофосфорної кислоти, доводять до 1 л водою і профільтровують через паперовий фільтр.

2. Стандарт білка: 10 мг БСА/мл [97].

Проведення аналізу:

1. Доводять об'єм зразка до 0,5 мл водою.

2. Додають 0,5 мл реагенту Бредфорда.

3. Перемішують і чекають на утворення забарвлення (від 5 с, але не більше 30 хв).

4. Вимірюють A_{595} в 1 мл кюветі.

5. Розраховують концентрацію білка по калібрувальній кривій, побудованій за БСА [99].

7.2. Визначення вмісту екзополісахариду в розчині

Вміст ЕПС у суспензії оцінюють за допомогою модифікованого вагового методу [100].

Суть цього методу полягає у визначенні маси осаду полісахариду, одержаного після обробки суспензії змішуваними з водою органічними розчинниками (етанол, ацетон, ізопропанол) [100].

Проведення аналізу: До певного об'єму суспензії, що містить екзополісахарид (зазвичай 10-15 мл) додають 1,5-2 об'єми ізопропанолу, осад ЕПС переносять на попередньо зважений на аналітичних вагах паперовий фільтр і висушують у сушильній шафі (60 °С) упродовж 40 хв. Після чого витримують при кімнатній температурі упродовж 30 хв і зважують на аналітичних вагах [100].

Кількість ЕПС ($K_{\text{ЕПС}}$, г/л) визначають за формулою:

$$K_{\text{ЕПС}} = \frac{\Phi_1 - \Phi_0}{V} \times 1000,$$

де Φ_1 – наважка фільтра з осадом ЕПС, г; Φ_0 – наважка фільтра, г; V – об'єм суспензії, з якого осаджували ЕПС, мл [100].

Для підвищення точності методу кількісного визначення ЕПС після його осадження перед висушуванням осад слід промити у чистому органічному розчинникові [100].

7.3. Визначення молекулярної маси екзополісахариду за допомогою гель-хроматографії

Для визначення молекулярної маси фракцій ЕПС стандартні декстриани (1,27, 5, 12, 50, 80, 100 та 300 кДа) (Sigma) пропускають через колонку Sephacryl S-200 (16 мм × 600 мм) і час утримання кожного декстрану отримуються з хроматографічних даних. Часи утримання декстранів наносяться на графік відносно логарифмів їх відповідних молекулярних мас. Потім визначають молекулярну масу отриманого ЕПС, використовуючи його час утримання [101].

7.4. Визначення складу виділеного екзополісахариду

Для визначення складу виділеного та очищеного екзополісахариду використовують газову хроматографію в поєднанні з мас-спектрометрією (ГХ-МС) [101, 102].

Склад ЕПС визначається методом, описаним в публікації Fooladi та ін. [103], з невеликими модифікаціями [102]. 20 мг ЕПС гідролізують 1 мл 2 М трифтороцтової кислоти при 100 °С протягом 2 годин. Метанол додають до зразка після гідролізу та випарюють. Потім гідролізат перетворюють на альдитолацетати, використовуючи 1 мл борогідриду натрію (10% в 1 М гідроксиду амонію) протягом 1 години при 30 °С. Після цього проби нейтралізують крижаною оцтовою кислотою і випарюють. Для ацетилювання відновлених цукрів використовували 1 мл оцтового ангідриду та 0,5 мл піридину, які потім інкубують при 50 °С протягом 40 хвилин. Потім розчин

екстрагують і випарюють за допомогою хлороформу. Суміш відновлюють 1 мл метанолу перед аналізом за допомогою ГХ–МС (Shimadzu QP-2010 plus) на капілярній колонці ВР-5 (30 м × 0,25 мм × 0,25 мм) [101].

Моносахариди виявляють за допомогою бібліотеки GC–MS і підтверджених за допомогою стандартних моносахаридів (d-глюкоза, d-ксилоза, l-арабіноза, d-галактоза та d-маноза), дериватизованих за допомогою тих самих процесів, що й раніше [102].

7.5. Визначення вологості субстанції екзополісахариду

Визначення масової частки вологи проводять за використання приладу Чижової [104].

Для швидкого видалення вологи використовують сушіння в інфрачервоних променях, які сприймаються не тільки поверхнею, але й проникають в продукт на глибину до 2...3 мм, що зумовлює його інтенсивне прогрівання. Одним з джерел інфрачервоних променів можуть бути нагріті металеві поверхні, які дають опромінення в діапазоні довжин хвиль 0,76...343 нм. На цьому принципі працює прилад Чижової (рис. 7.1), що складається із двох масивних металевих плит (сплав алюмінію і чавуну) круглої форми, між якими розміщується тонкий шар матеріалу, що висушується. Плити з'єднані між собою шарніром і нагріваються електричними елементами, розміщеними зовні сторін приладу, що забезпечує швидке зневоднення продукту. Під час роботи відстань між плитами складає 2 мм, температура контролюється двома ртутними термометрами. Нагрівання плит може бути сильним і слабим. Сильне нагрівання використовується у випадку першопочаткового нагрівання, а слабке – для підтримання необхідної температури (для перемикання режиму нагрівання є спеціальний перемикач). Контактний термометр забезпечує сталість заданої температури в межах $\pm 1^{\circ}\text{C}$ [104].

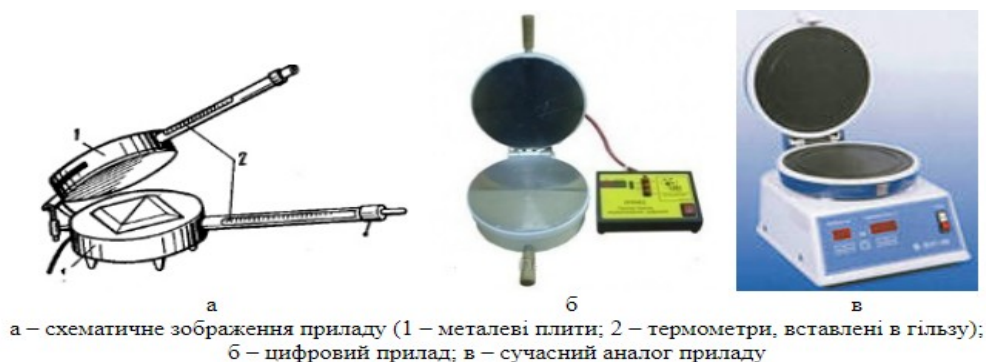


Рис. 7.1. Прилад Чижової

Висушують об'єкт в пакетах трикутної (для приладу круглої форми) або прямокутної форми (для приладу прямокутної форми). Для приладів Чижової старого зразку паперові пакети необхідно виготовити самостійно. Для виготовлення пакетів прямокутної форми лист паперу (газетного) форматом 20×14 згинають навпіл, а відкриті з трьох боків краї пакету загинають на 1,5 см (рис. 7.2). Розмір готових пакетів $8,5 \times 11$ см. Для виготовлення пакетів трикутної форми папір форматом 15×15 см згинають по діагоналі і відкриті краї загинають на 1,5 см [104].

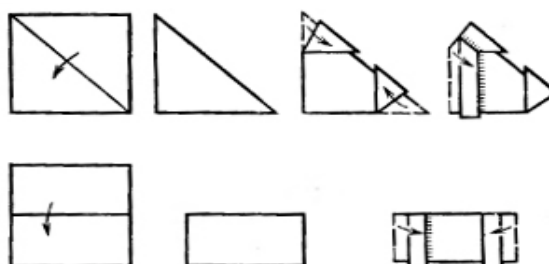


Рис. 7.2. Виготовлення паперових пакетів для приладу Чижової.

Для визначення масової частки вологи в продукті за допомогою експрес методу попередньо виготовляють 2 паперові пакети, які просушують у приладі Чижової за температури $160\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом 3 хв., охолоджують в ексикаторі 3 хв. та зважують. Далі їх розкривають та поміщають в них наважки субстанції (проводять два паралельних визначення). Пакети закривають та розміщують у приладі для висушування за температури $160\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 4 хв. Після висушування пакети охолоджують в ексикаторі, зважують і за різницею мас наважки до та після висушування розраховують масову частку вологи [104].

РОЗДІЛ 8. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

8.1. Розрахунок річної потужності виробництва ЛЗ та кількості серій на рік

Річна потужність біосинтезу ЕПС складає 107,5 кг.

За 1 цикл виробництва отримуємо 143 963 туб з гелем, що містить наночастинки срібла.

Кількість виробничих циклів на рік складає 30, тоді кількість вироблених туб з гелем за рік становить:

$$143\,963 \cdot 30 = 4\,318\,890 \text{ шт.}$$

Продуктивність наповнювальної машини складає 1200 туб на годину.

Отже, за один цикл наповнюється $N_{\text{цк}} = 1200 \cdot 8 = 9600$ туб.

Кількість серій $N_{\text{сер}} = N_{\text{туб}} / N_{\text{цк}} = 4318890/9600 \approx 450$ серій.

8.2. Обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень (підготовки персоналу, дезінфікуючих засобів, вентиляційного повітря)

У відповідності до СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика» підготовку компонентів та виготовлення більшості продукції необхідно здійснювати принаймні в навколишньому середовищі класу D, щоб забезпечити достатньо низький рівень ризику контамінації частками і мікроорганізмами [105]. Тому виготовлення гелю з наночастками срібла планується здійснювати згідно вимог GMP в асептичних умовах в приміщеннях класу чистоти D, з метою зведення до мінімуму контамінації мікроорганізмами гелю під час процесу виготовлення.

Персонал. Потрібно, щоб у чистих зонах була присутня лише мінімальна кількість необхідного персоналу; це особливо важливо при обробці в асептичних умовах. Інспектування і контроль, наскільки можливо, слід здійснювати ззовні чистих зон [105].

					НУХТ БТЕК 02.02.09 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Качківська М.О.			РОЗДІЛ 8. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання лікарського засобу	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Пирог Т.П.					114	159
Консультант						115		
Н. Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В.П.						

Весь персонал (включаючи співробітників, які займаються прибиранням і технічним обслуговуванням), який працює в таких зонах, повинен регулярно проходити навчання з дисциплін, пов'язаних з належним виробництвом стерильної продукції, включаючи питання гігієни й основи мікробіології. Якщо необхідно, щоб сторонні співробітники, які не пройшли такого навчання (наприклад, працюючі за контрактом будівельники або наладчики обладнання), знаходилися в чистому приміщенні, то вони мають бути докладно проінструктовані й за ними має бути встановлений суворий нагляд [105].

Необхідні суворі вимоги до особистої гігієни і чистоти. Співробітники, зайняті у виробництві стерильних лікарських препаратів, мають бути проінструктовані про те, що вони зобов'язані доповідати про будь-які обставини, що можуть бути причиною поширення аномальної кількості або типів забруднень; при виникненні таких обставин бажані періодичні перевірки здоров'я співробітників. Дії, необхідні щодо персоналу, який може стати джерелом мікробіологічної контамінації, мають визначатися призначеною компетентною особою [105].

У чистих зонах не допускається носити наручні годинники і ювелірні прикраси, а також використовувати косметику. Переодягатися і митися необхідно згідно з письмовими методиками, розробленими так, щоб зводити до мінімуму ризик контамінації одягу для роботи в чистих зонах і не внести забруднення в чисті зони [105].

Необхідно, щоб одяг і його якість відповідали процесу і класу робочої зони. Одяг слід носити таким чином, щоб захистити продукцію від контамінації. У приміщеннях класу чистоти D волосся і борода (при наявності) мають бути закриті; слід носити звичайний захисний костюм і відповідне взуття або бахіли; мають бути вжиті відповідні заходи для запобігання будь-якій контамінації чистої зони ззовні [105].

Одяг для чистих приміщень необхідно очищати і поводитися з ним таким чином, щоб він не піддавався додатковому забрудненню, що згодом

може стати причиною контамінації. Ці роботи слід виконувати відповідно до письмових методик. Для такого одягу бажано мати окремі пральні. Неправильна обробка одягу пошкоджує волокна тканини, що збільшує ризик відділення часточок [105].

Дезінфікуючих засобів. Щоб обрати миючий та дезінфікуючий засіб, необхідно врахувати його вартість та витрати на оброблювання потрібної площі виробничого приміщення. Приблизно на 1 м² затрачається 100 мл робочого розчину мийного чи дезінфікувального засобу (згідно з методичними рекомендаціями щодо підготовки виробничих приміщень, наказ МОЗ України від 14.12.2001 №502) [106].

Вибір мийних та дезінфікуючих засобів залежить насамперед від об'єкта, який буде піддаватися обробці, тобто для обладнання, комунікацій та інвентарю, або для стін, стелі та підлоги [106].

Враховуючи такі вимоги, до миючих та дезінфікуючих засобів, як рівень антимікробної активності, необхідність забезпечувати повне видалення механічного, білкового та жирового забруднень шляхом їх диспергування та емульгування, а також бути найбільш ефективними, безпечними і недорогими, було проаналізовано наступні миючі та дезінфікуючі засоби: Дезекон ОМ, Дезекон, Vasept Forte, Славін-Дельта, Віндез ЧАС-С та Санікон. Дані мийно-дезінфікуючі засоби дозволені до використання на біотехнологічних та фармацевтичних виробництвах згідно «Державного реєстру дезінфекційних засобів» (2023).

Вартість концентратів мийних та дезінфікувальних засобів та їх витрати при виробництві наведені в таблиці 8.1.

Проаналізувавши дані, наведені в табл. 8.1, можна зробити такі висновки:

- для миття обладнання, інвентарю, комунікацій, тари доцільно використовувати мийний засіб «Vasept forte» та «Дезекон».

«Vasept forte»: Засіб володіє мийно-дезінфікуючими властивостями, що дає змогу заощадити кошти. Видаляє механічні, білкові, жирові забруднення

із зовнішніх поверхонь. Засіб має мийні, очищувальні та дезодоруючі властивості, не пошкоджує об'єкти, що піддаються знезараженню (вироби, з пластмас, гуми, металу, нержавіючої сталі, міді, алюмінію, свинцю і олова, скла та інших матеріалів), не фіксує на поверхнях об'єктів обробки забруднення органічного походження, не залишаючи плям та нальоту [107].

Склад даного засобу є комбінованим, що забезпечує більш ефективно очищення та дезінфекцію у порівнянні з однокомпонентними засобами. Основними діючими речовинами є четвертинні амонієві сполуки та спирт ізопропіловий. Дані компоненти мають ряд позитивних та негативних властивостей, але при їх комбінації ці властивості взаємозаміщуються [107].

Засіб «VASEPT forte», має антимікробну активність до грамнегативних та грампозитивних бактерій (включаючи туберкульоз, небезпечних та особливо небезпечних (чуми, холери, туляремія, черевний тиф, клостридії, легіонельоз), має бактерицидні (включаючи збудників туберкульозу, сальмонельозів, шигельозів та умовно патогенних мікроорганізмів — збудників, віруліцидні, фунгіцидні та спороцидні властивості [107].

Засіб дезінфікуючий «VASEPT forte», за параметрами гострої токсичності відповідно до ГОСТ 12.1.007-76 належить до мало небезпечних речовин при нанесенні на шкіру та при введенні у шлунок (4 клас безпеки); [107].

«Дезекон»: Рідкий концентрований лужний миючий дезінфікуючий засіб з посиленою мийною дією для дезінфекції, передстерилізаційного очищення, щоденних і генеральних прибирань і санітарної обробки [106].

Діючими речовинами в ньому виступають комплекс 4-х четвертинних амонієвих солей (не менше 5,5%) і синергічно діючих допоміжних компонентів, які поєднують дезінфікуючу, виражену мийну і дезодоруючу дію. рН засобу $12,4 \pm 0,5$ [108].

Даний засіб ефективний проти грам + і грам- бактерій (включаючи *Listeria monocytogenes*, *Legionella pneumophila*, *P.aeruginosa* (*Antibiotic resistant*), та ін.), вірусів, патогенних грибів і цвілевих грибів [108].

Має IV клас небезпеки (малонебезпечні речовини за ДСТУ 12.1.007-76) при інгаляційній та нашкірній дії, не містить летючих і екологічно неблагодіючих компонентів, не подразнює органи дихання і очі, має приємний запах. Не має сенсibiliзуючої, мутагенної, тератогенної, гонадотоксичної і канцерогенної дії [108].

Узагальнена характеристика витрат мийних та дезінфікувальних засобів для виробництва

Назва мийного/дезінфікуючого засобу	Об'єкт миття та/або дезінфекції	Концентрація робочого розчину, %	Загальна площа (об'єм) миття та/або дезінфекції об'єкту за весь період виробництва, м ² (л)	Кількість робочого розчину за весь період виробництва, л	Вартість 1 л/кг мийного або дезінфікувального засобу, грн	Загальна вартість миття та/або дезінфекції за весь період виробництва, грн
Дезекон ОМ*	Обладнання, інвентар	0,5	23875	4775	441	10528,7
Дезекон*	Обладнання, інвентар	0,5	23875	4775	255	6088,1
Vasept Forte*	Обладнання, інвентар	0,5	23875	4775	201	4798,8
Славін-Дельта*	Стіни, підлога, двері, інвентар, тара	0,5	12095	1209,5	546	537
Віндез ЧАС-С*	Стіни, підлога, двері, інвентар, тара	0,2	12095	1209,5	300	648
Санікон*	Стіни, підлога, двері, інвентар, тара	0,2	12095	1209,5	255	550,8

* - засоби для дезінфекції було взято з Державного реєстру дезінфекційних засобів 2023 рік.

Примітки: Ціни мийних та/або дезінфікуючих засобів станом на 01.12.2023.

- для миття та дезінфекції стін, підлоги, та дверей – «Віндез ЧАС – С» та «Санікон».

«Віндез ЧАС-С»: Даний засіб має мийно-дезінфікуючі властивості.

Засіб має високу антимікробну активність завдяки комбінованому складу: четвертинно амонієві сполуки і спирт [109].

«Санікон»: Рідкий концентрований лужний миючий дезінфікуючий засіб з посиленою мийною дією для дезінфекції, передстерилізаційного очищення, щоденних і генеральних прибирань і санітарної обробки [110].

Миючий дезінфікуючий засіб «Санікон» володіє широким спектром антимікробної активності, має бактерицидну, віруліцидну, фунгіцидну та спороцидну дії [110].

Має IV клас небезпеки (малонебезпечні речовини по ГОСТ 12.1.007-76). Не містить альдегідів, фосфатів, активного хлору, кисню та інших агресивних, високотоксичних, летких і екологічно небезпечних компонентів. Засіб дозволено для застосування в присутності пацієнтів та персоналу, що не бере участь в проведенні дезінфекції, не дратує органи дихання і очі [110].

Засоби варто застосовувати з інтервалом в 3 місяці для запобігання розвитку стійких штамів мікроорганізмів.

Вентиляційне повітря. Повітря виробничих приміщень – потенційне джерело забруднення препаратів, тому його очищення є одним з ключових завдань підготовки виробництва. Як вентиляційне повітря розуміють повітря, очищене від часток та мікроорганізмів у системі підготовки дво- або триступінчатої фільтрації, яке надходить до приміщень виробництва нестерильних лікарських засобів [105,111].

Системи вентиляції та кондиціонування повітря мають бути обладнані звуковбирними й віброгасячими пристроями, з метою зниження рівня шуму та вібрації до заданих меж, автоматичним регулюванням температури й вологості, блокуванням, сигналізацією [105,111].

Повітроводи слід періодично очищати та проводити їх дезінфекційну обробку для уникнення розвитку сторонньої мікрофлори. Повітроводи,

фільтрувальні камери і їх конструкції мають бути виготовлені з матеріалу, стійкого до дезінфекційних розчинів з метою уникнення їх [105,111].

Очищення припливного повітря має бути ступінчастим, з метою видалення частинок різного діаметру, що наявні у повітрі. Кількість рівнів очищення обумовлюється необхідною чистотою повітряного середовища приміщення [105,111].

З метою очищення повітря від пилу ($\delta > 50$ мкм) необхідним є застосування фільтрів класу G – фільтрів грубого [105,111].

З метою очищення повітря до ступеня $E = 95\%$ необхідним є застосування фільтрів класу F – фільтрів тонкої очистки.

На кожному рівні фільтри повинні відповідати наступним класам :

- для виробничих приміщеннях D класу чистоти:

1 рівень – не нижче класу G 3

2 рівень – не нижче класу F 6

На кожному рівні очищення слід передбачити штуцери з метою відбору проб повітря для визначення концентрації механічних часток до та після фільтрації [105,111].

8.3. Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки

Підготовка матеріалів для первинного пакування включає порядок їх звільнення від тари, перегляду та відбракування (при необхідності).

Персонал, що здійснює підготовку матеріалів для первинного пакування, має бути ознайомлений зі стандартними робочими процедурами щодо підготовки матеріалів для первинного пакування [106].

Контроль мікробіологічної чистоти матеріалів для первинного пакування проводять відповідно з Методичними рекомендаціями щодо контролю мікробіологічної чистоти матеріалів для первинного пакування, затвердженими наказом МОЗ України 14.12.01 N 502 [106].

Звільнення від тари рекомендується проводити з використанням напівавтомату, що забезпечує підняття її на рівень транспортуючого

пристрою, пошарове зсування та накопичення на стіл і подання на перегляд [106].

Перегляд може здійснюватися візуально, наприклад, на переглядових столах, обладнаних пристроєм для перевертання, та лампами денного світла. Відбракуванню підлягають матеріали для первинного пакування, що мають відхилення на зовнішній вигляд від вимог діючої нормативної документації [106].

Підготовлені матеріали для первинного пакування та закупорювальні матеріали мають бути використані відразу ж для пакування лікарських засобів. Термін їх зберігання не може перевищувати більше 48 год при умовах, що максимально захищають від повторного забруднення [106].

Стерилізовані матеріали для первинного пакування та закупорювальні матеріали, що надходять від виробника в герметичній упаковці, слід звільняти від упаковки і переглядати в умовах, що максимально знижують ризик контамінації мікроорганізмами та механічними частками [106].

Отже, підготовка первинного пакування та закупорювальних матеріалів буде включати наступні етапи:

- ✓ звільнення від упаковки;
- ✓ попередній перегляд;
- ✓ відбракування (за необхідності).

8.4. Обґрунтування вибору підготовки води

Виготовляючи гель з наночастинками срібла, важливо мати високоякісну воду, оскільки вона є одним із основних компонентів продукту. Очищена вода має відсутність забруднень, мікроорганізмів і домішок, що можуть вплинути на якість гелю та його властивості.

Вихідною сировиною для води фармакопейної якості є вода питна, що повинна бути попередньо підготовлена різними способами. Незважаючи на те, що якість води питної повинно відповідати ДСТУ 7525:2014, невід'ємною частиною будь-якого процесу водопідготовки на фармацевтичному

підприємстві є вхідний контроль якості питної води. На підставі проведеного контролю приймають рішення стосовно подальшої підготовки води [111].

Загальна технологія одержання води очищеної згідно СТ-Н МОЗУ 42-3.7:2013 має включати наступні стадії [111]:

1. Забір та попередня підготовка води;
2. Пом'якшення води;
3. Зворотній осмос;
4. Електродеіонізація або ще одна стадія зворотнього осмосу;
5. Зберігання та розподіл води.

Отримання та попередня підготовка води. Джерелом надходження води на фармацевтичне підприємство можуть бути власні скважини або міський водопровід [111].

Забір води передбачає накопичення води в ємкостях з розривом струменю, що дозволяє створити стабільний потік для забезпечення водою системи водопідготовки підприємства [111].

Первинна омиття води від крупних механічних домішок (груба фільтрація) здійснюється на фільтрах з системою зворотної промивки, які в автоматичному режимі здійснюють промивку фільтрувального матеріалу та скидання з системи гідросуспензії. Це дозволяє мати постійний рівномірний потік води та ефективно позбуватись крупних механічних включень [111].

Залежно від хімічного складу води, кількості й характеру домішок стадії попередньої підготовки води надалі можуть відрізнятись. Додатково перед пом'якшенням вода може проходити наступні стадії обробки:

- аерація (підвищує концентрацію розчиненого кисню, який сприяє кращому очищенню води на наступних етапах);
- руйнування асоціатів й комплексів металів (внесення через насос-дозатор біоцидів та коагулянтів);
- тонка омиття чи ультрафільтрація (видалення дрібних механічних та колоїдних домішок);
- адсорбційна омиття (сорбція органічних речовин вугільним фільтром);

- стерилізація ультрафіолетовим випромінюванням (знищення різних форм мікроорганізмів, які містяться у воді) [111].

Пом'якшення води проводиться двома основними способами: осадженням і іонним обміном.

Осадження. Спосіб полягає в переведенні іонів кальцію і магнію в малорозчинні з'єднання шляхом додавання до води розчинів розрахованих кількостей гідрату окису кальцію, їдкого натрію, кристалічного карбонату натрію та інше [111].

Після декількох часів взаємодії сполук, що утворюють накип з вказаними реагентами утворюються осади, що потім видаляються відстоюванням або фільтруванням. Для фільтрування можливе використання пісчаних фільтрів [111].

Іонний обмін. Заснований на обміні катіонів кальцію і магнію на катіони натрію або водню, що містяться в практично нерозчинному у воді матеріалі – катіоніті [111].

Вода, яка пропущена через катіонітові фільтри, буде містити тільки натрієві солі або мінеральні кислоти, які добре розчинні і нездатні до утворення накипу в апаратах для дистиляції.

Даний спосіб має ряд переваг перед осадженням: більш якісне усунення жорсткості води; проста конструкція і просте обслуговування апаратури; низька вартість водопідготовки; можливість одночасного видалення органічних речовин. До недоліків цього способу відноситься збільшення лужності і кількості деяких солей в пом'якшеній воді [111].

У фармацевтичній промисловості використовують сильно кислотні сульфо-катіоніти КУ-1, КУ-2 і пористий КУ-23 [111].

Процес іонного обміну здійснюється шляхом дифузії іонів розчиненого електроліту до поверхні сорбенту, наступної дифузії іонів розчиненого електроліту усередину сорбенту, витіснення рухливого іона сорбенту зі сфери впливу катіонного (аніонного) комплексу сорбенту і дифузії витісненого рухливого іона з фази сорбента в розчин. Іонообмінні

властивості смол, які використовуються в якості сорбенту, обумовлені наявністю у їх складі функціональних, хімічно активних іонних груп, жорстко зв'язаних з просторовою молекулярною сіткою.

Зворотний осмос наразі є базовим методом у виробництві води очищеної. Зворотний осмос або гіперфільтрація) – це перехід розчинника (води) з розчину через напівпроникну мембрану під дією зовнішнього тиску. Надлишковий робочий тиск сольового розчину набагато більше осмотичного. Рушійною силою зворотного осмосу називають різницю тиску по обидві сторони мембрани. Зворотний осмос – дуже тонкий рівень фільтрації. Зворотньоосмотична мембрана діє як бар'єр для всіх розчинених солей, неорганічних молекул, органічних молекул з молекулярною масою понад 100, а також мікроорганізмів і пірогенних речовин [111].

Осмосом називається явище переважного переходу молекул розчинника в розчин. Для одержання води методом зворотного осмосу потрібно, створюючи надлишковий тиск, що перевищує осмотичний, примусити молекули води дифундувати через напівпроникну мембрану в напрямку, протилежному прямому осмосу, тобто з боку високомінералізованої води у відсік чистої води, збільшуючи її об'єм.

Серед переваг зворотного осмосу слід зазначити простоту і незалежність від вмісту солі у вихідній воді. При здійсненні осмотичного процесу проблему представляє вибір мембран, що володіють відповідною однорідністю.

Електродеіонізація використовується після зворотного осмосу для додаткового максимального видалення іонів з води очищеної. Це є один з найбільш сучасних методів видалення.

Основною рушійною силою процесу електродеіонізації є різниця потенціалів постійного електричного поля з обох боків мембранного каналу, утвореного катіонообмінною і аніонообмінною мембраною, заповненого іонообмінною смолою. Саме різниця потенціалів забезпечує перенесення

розчинених іонів з потоку води через іоноселективні мембрани і безперервну регенерацію іонообмінних смол [111].

Електродеіонізація складається з трьох процесів:

1. Іонний обмін, при якому розчинені у вихідній воді іони, проходячи через шари іонообмінних смол, поглинаються аніонітом або катіонітом;
2. Відведення іонів через шари іоніту й іоноселективні мембрани в зону концентрату;
3. Регенерація іоніта іонами водню і гідроксид-іонами, отриманими внаслідок електролізу молекул води під впливом постійного струму.

Застосування електродеіонізації має наступні переваги:

- не потребує хімічних реагентів;
- не утворює стічних вод, які містять токсичні речовини;
- неперервний режим роботи;
- постійна якість чистої води;
- повна відсутність мікроорганізмів;
- рентабельний процес;
- зменшення капітальних витрат та витрат на обслуговування;
- витрати електроенергії – 0,5 кВт за 1 м³ води [111].

8.5. Підбір технологічного обладнання для виготовлення гелю з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

Вихідні дані:

- 1) якщо в 1 тубі міститься 10 г гелю, то у 143 963 тубах – 1439,63 кг;
- 2) кінцева кількість цільового продукту, яка поступає з КР з однієї ферментації становить 3,77 кг.

Розподіл втрат по стадіях та підбір необхідного обладнання наведено у таблиці 8.2.

Таблиця 8.2.

Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

№ п/п	Назва стадії (операції)	Матеріальні потоки на стадії	Кількість по стадіях			Необхідне обладнання
			Надійшло	Втрати, (Разом 20%)	Вийшло	
1	2	3	4	5	6	7
Етапи отримання гелю з наночастками срібла						
Одержання наночастинок срібла						
1	Утворення наночастинок срібла за наявності ЕПС	ЕПС	3,77 кг	-	-	Реактор об'ємом 1 м ³
		Вода очищена	754 л (що відповідає концентрації ЕПС 5 г/л)	-	-	
		1М розчин нітрату срібла	0,754 л (що відповідає кількості AgNO ₃ 1 мМ або 0,17 г/л)	-	-	Реактор об'ємом 1 л
		6% розчин NaOH	1,5 л (2 мл на 1 л розчину)			Реактор об'ємом 2 л
		Розчин наночастинок срібла	758,5 кг (3,77+754+0,754+1,5)	37,9 кг (5%)	719,9 кг	- (насосом передається на стадію утворення емульсії)

Отримання гелю з наночастками срібла						
2	Утворення емульсії розчину наночасток срібла з олією	Розчин наночасток срібла	719,9 кг	-	-	Реактор об'ємом 1 м ³
		ПЕГ-400	71,9 кг	-	-	
		Гідрогенізована касторова олія	71,9 кг	-	-	
		Емульсія наночасток срібла	863,4 кг (719,9+71,9 +71,9)	43,17 кг (5%)	820,2 кг	- (насосом передається на стадію отримання гелю)
3	Отримання гелевої основи	Тригліцериди	15,1 кг (1%)	-	-	Реактор об'ємом 1 м ³
		Гліцерин	45,3 кг (3%)	-	-	
		Пропіленгліколь	303,08 кг (20%)	-	-	
		Гіалуронова кислота	75,7 кг (5%)	-	-	
		Альгінат натрію	22,7 кг (1,5%)	-	-	
		Гелева основа	461,8	23,1 кг (5%)	438,7 кг	- (насосом передається на стадію отримання гелю)
4	Приготування розчину допоміжних речовин	Пропіленгліколь	151,5 кг (10%)	-	-	Реактор об'ємом 500 л
		Бісаболол	3 кг (0,2%)	-	-	
		Д-пантенол	45,4 кг (3%)	-	-	
		Тимол	7,5 кг (0,5%)	-	-	
		Диметикон	4,5 кг (0,3%)	-	-	
		Сорбат калію	4,5 кг (0,3%)	-	-	
		Лізоциму гідрохлорид	6,8 кг (0,45%)	-	-	
		Сульфат цинку	30,3 кг (2%)	-	-	

Закінчення таблиці 8.2

		Вітамін А	1,5 кг (0,1%)	-	-	
		Вітамін Е	1,5 кг (0,1%)	-	-	
		Розчин допоміжних речовин	-	-	256,5 кг	- (насосом передається на стадію гомогенізації гелю)
5	Гомогенізація гелю	Емульсія наночастинок срібла	820,2 кг	-	-	Гомогенізатор продуктивністю 35000 л/год
		Гелева основа	438,7 кг			
		Розчин допоміжних речовин	256,5 кг			
		Гомогенізований гель	1515,4 кг	75,77 кг (5%)	1439,63 кг	- (передається на стадію фасування гелю)
Фасування гелю						
6	Фасування гелю у туби	Гомогенізований гель	1439,63 кг	-	-	Автомат для фасування в алюмінієві туби продуктивністю 20 туб/хв
		Туби	143 963 шт.	-	-	
		Бушони	143 963 шт.			
		Розфасована продукція	-	-	143 963 шт.	- (передається на пакування)

РОЗДІЛ 9. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ОТРИМАННЯ ГЕЛЮ З НАНОЧАСТКАМИ СРІБЛА

У таблиці 9.1. представлено специфікацію технологічного обладнання, що наведено на апаратурній схемі у графічній частині даної роботи.

Таблиця 9.1.

Специфікація ділянки приготування гелю

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
Д-1 Д-3	Ваги технічні	2	Лабораторні ваги Центровес-JD-2000-2. Найбільша межа зважування 2 кг. Ціна поділки 0,01 г. Матеріал корпусу метал. Матеріал платформи нержавіюча сталь. Компанія: «VES» (Україна) ¹
Р-2	Реактор 1 л	1	Реактор об'ємом 1 л. Матеріал – боросилікатне скло. Швидкість роботи мішалки 1-800 об/хв. Габарити 400х330х900 мм. Компанія: «Professional Laboratory Solution Provider» (Китай) ²
Р-4	Реактор 2 л	1	Реактор BSF-2L. Матеріал – нержавіюча сталь. Швидкість перемішування 0-460 об/хв. Габарити 450х450х1410 мм. Компанія: «Nanbei Group» (Китай) ³
Д-5 Д-8 Д-11 Д-14	Дозатор	4	Дозатор ваговий ФС-125. Обсяг накопичувального бункера – 125 л. Межі зважування – 0.15-50 кг. Похибка дози (допустима) 1%. Компанія: «ТехноМашСтрой» (Україна) ⁴
Р-6 Р-12 Р-15	Реактор 1 м ³	3	Реактор РС-1000. Матеріал – сталь AISI 316 L (03X17H9M2), сталь AISI 304 (07X17H9). Обладнаний мішалкою та сорочкою. Габарити 1750х1600х2300. Компанія: «Промвіт» (Україна) ⁵
Н-7 Н-10 Н-13 Н-16	Насос	4	Насос багатоступінчастий горизонтальний. Корпус: чавун з антикорозійною обробкою / нержавіюча сталь AISI 304; Робоче колесо: нержавіюча сталь AISI 304; Вал двигуна: нержавіюча сталь AISI 304. Максимальна продуктивність 60 л/хв. Компанія: «Sigma Ukraine» (Україна) ⁶

НУХТ БТЕК 02.02.09 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата
------	------	----------	--------	------

Розроб.	Качківська М.О.
Керівник	Пирог Т.П.
Консультант	
Н. Контр.	
Затверд.	Стабніков В.П.

РОЗДІЛ 9. Специфікація
обладнання для отримання
гелю

Літ.	Арк.	Акрушів
	130	131

Кафедра БТМ

Р-9	Реактор 500 л	1	Реактор РСДП-500 ВК. Матеріал – сталь AISI 316 L (03X17H9M2), сталь AISI 304 (07X17H9). Обладнаний мішалкою та сорочкою. Габарити 1800x1600x2400. Компанія: «Промвіт» (Україна) ⁷
Г-17	Гомогенізатор	1	Гомогенізатор промисловий об'ємом 2000 л. Діапазон оберту мішалки-гомогенізатора до 4000 об/хв. Тиск у вакуумі -0,85 бар. Компанія: «GRASON» (Польща) ⁸
АФ-18	Автомат для фасування	1	Тубонаповнювальна машина Ахomatic Ахо 3600. Продуктивність: до 300 туб на хвилину. Можливість фасування від 3 до 250 мл (і до 500 л опціонально). Компанія: «Ахomatic» (Італія) ⁹

Примітка*: пошук і підбір обладнання здійснювали з використанням наступних електронних джерел:

- 1 – <https://ves.com.ua/laboratornye-vesy-tsentroves-jd-2000-2>
- 2 – <https://www.laboao.com/products/single-layer-glass-reactor/1l-single-layer-glass-reactor>
- 3 – <https://nanbei-china.en.made-in-china.com/product/xmLrVvFdgEYe/China-Nanbei-High-Pressure-Stainless-Steel-Chemical-Reactor-2L.html>
- 4 – <https://prom.ua/ua/p1345836234-vesovoj-doзатор-125.html?&primelead=NC41>
- 5 – <https://promvit.com.ua/reaktor-dlya-siropov-rs-1000/>
- 6 – <https://sigma.ua/buy/nasos-mnogostup-gorizont-0-75kvt-hmax-53m-qmax-60l-min-nerzh-leo-3-0-775614/>
- 7 – <https://promvit.com.ua/reaktor-dlya-mlf-rsdp-500-vk/>
- 8 – <https://www.grason.pl/ua/mieszalniki>
- 9 – <https://gvp.com.ua/ua/tubonapovnyuvalna-mashyna-axomatic-aho-3600>

РОЗДІЛ 10. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ГЕЛЮ З НАНОЧАСТКАМИ СРІБЛА

Технологічна схема отримання гелю з наночастками срібла для комплексного лікування захворювань носа включає допоміжні роботи (підготовка води очищеної, приготування 1М розчину нітрату срібла, приготування 6% розчину лугу, отримання розчину наночасток срібла за наявності ЕПС штаму *Arthrobacter* sp. В4, приготування розчину допоміжних речовин) та технологічний процес (утворення емульсії наночасток срібла з олією, отримання гелевої основи, гомогенізація гелю, фасування гелю у туби).

10.1. Допоміжні роботи

ДР 1. Підготовка води очищеної

Подають воду питну на фільтр грубої очистки для видалення часток розміром більше 100 мкм. Після фільтру грубої очистки вода надходить на систему пом'якшування води для заміни іонів кальцію і магнію іонами натрію. Потім воду подають на патронний вугільний фільтр для зниження кількості органічних речовин і хлору. Потім воду подають на установку зворотного осмосу для очищення від органічних сполук і солей; розміри пор мембрани 0,0005 - 0,001 мкм. Після цього здійснюють фотохімічне окислення води ультрафіолетовими променями з довжинами хвиль 185 і 245 нм. Воду подають на ультрафільтраційну установку з розмірами пор 0,001 - 0,05 мкм, після чого проводять деіонізацію на колонках з іонообмінною смолою та подають деіонізовану воду на багатокорпусну дистиляційну установку .

Після дистилятора вода очищена надходить до ДР 2, ДР 3.

ДР 2. Приготування 1М розчину нітрату срібла

На технічних вагах Д-1 зважують 136 г солі нітрату срібла. Наважку переносять в реактор Р-2 об'ємом 1 л та додають 800 мл води очищеної від

НУХТ БТЕК 02.02.09 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 9. Опис технологічної схеми одержання гелю		
		Качківська М.О.			Літ.	Арк.	Акрushів
		Пирог Т.П.				132	159
					Кафедра БТМ		
		Стабніков В.П.					

ДР 1 за допомогою лабораторного мірного циліндра. Після цього вмикають мішалку, якою обладнаний реактор, та перемішують ($n = 100-150$ об/хв) за температури $30-40^{\circ}\text{C}$ при подачі пари в сорочку апарату до повного розчинення. Значення температури та швидкість обертів контролюють протягом всього часу перемішування. Отриманий розчин надходить до *ДР 4*.

ДР 3. Приготування 6% розчину лугу

На технічних вагах Д-3 зважують 90 г кристалічного NaOH зі складу. Наважку переносять в реактор Р-4 об'ємом 2 л та додають 1,5 л води очищеної від *ДР 1* за допомогою лабораторного мірного циліндра. Після цього вмикають мішалку, якою обладнаний реактор, та перемішують ($n = 100-150$ об/хв) за температури 40°C , що встановлюється шляхом подачі пари в сорочку апарату, до повного розчинення. Значення температури та швидкість обертів контролюють протягом всього часу перемішування. Готовий розчин лугу самопливом подають до *ДР 4*.

*ДР 4. Отримання розчину наночасток срібла за наявності ЕПС штаму *Arthrobacter sp. B4**

За допомогою вагового дозатора Д-5 зважують 3,77 кг ЕПС *Arthrobacter sp. B4* та переносять в реактор Р-6 об'ємом 1 м^3 , додають 754 л води очищеної за допомогою об'ємного дозатора. Після цього вмикають мішалку, якою обладнаний реактор, та перемішують ($n = 100-150$ об/хв) за температури 40°C при подачі пари в сорочку апарату до повного розчинення. Потім мірним циліндром подають 754 мл (0,754 л) 1М розчину нітрату срібла для забезпечення концентрації аргентуму нітрату $0,17\text{ г/л}$ в розчині. Перемішують ($n = 100-150$ об/хв) до повного розчинення.

pH на рівні 7-8 підтримують шляхом подачі 6%-го розчину лугу від *ДР 3* за допомогою об'ємного рідинного дозатора. Реакційну суміш інкубують при температурі 80°C протягом 10 хв. Значення температури та pH контролюють протягом усього часу інкубування. Після цього розчин охолоджують шляхом подачі холодної води в сорочку реактора.

По закінченню процесу визначають утворення наночастинок срібла спектрофотометричним методом. Окислення іонів срібла підтверджується УФ-видимими спектрами, що спостерігаються в діапазоні довжини хвилі 400–500 нм, визначеними за допомогою спостереження смуг поверхневого плазмонного резонансу (SPR). В 1 г гелю має міститись 0,05 мг наночастинок срібла.

Розчин наночастинок срібла насосом Н-7 передається до Р-12 на стадію утворення емульсії *ТП 6*.

ДР 5. Приготування розчину допоміжних речовин

За допомогою вагового дозатора Д-8 зважують 151,5 кг пропіленгліколю, 3 кг бісабололу, 45,4 кг Д-пантенолу, 7,5 кг тимолу, 4,5 кг диметикону, 4,5 кг сорбату калію, 6,8 кг лізоциму гідрохлориду, 30,3 кг сульфату цинку 1,5 кг вітаміну А, 1,5 кг вітаміну Е та переносять у реактор Р-9 об'ємом 500 л. Вмикають мішалку реактора та перемішують при $n = 100-150$ об/хв за температури 40°C при подачі пари в сорочку апарату до досягнення повної розчинності компонентів. Значення температури та швидкість обертів контролюють протягом всього часу перемішування. Розчин допоміжних речовин насосом Н-10 направляється до *ТП 8*.

10.2. Стадії технологічного процесу

ТП 6. Утворення емульсії наночастинок срібла з олією

Отримують розчин наночастинок срібла від *ДР 4*. Зі складу отримують ПЕГ-400 та гідрогенізовану касторову олію. За допомогою вагового дозатора Д-11 зважують та передають у реактор Р-12 об'ємом 1 м^3 71,9 кг ПЕГ-400 та 71,9 кг гідрогенізованої касторової олії відповідно. Потім вмикають мішалку, якою обладнаний реактор, та перемішують ($n = 100$ об/хв) за температури 40°C до досягнення однорідної емульсії. Значення температури та швидкість обертів контролюють протягом всього часу перемішування.

Емульсію насосом Н-13 направляють до *ТП 8*.

ТП 7. Отримання гелевої основи

За допомогою вагового дозатора Д-14 зважують 14,4 кг тригліцеридів, 43,1 кг гліцерину, 431,8 кг пропіленгліколю, 75,7 кг гіалуронової кислоти, 22,7 кг альгінату натрію та передають у реактор Р-15 об'ємом 1 м³. Вмикають мішалку реактора та перемішують при $n = 100$ об/хв за температури 40°C при подачі пари в сорочку апарату до досягнення гомогенності гелевої основи. Значення температури та швидкість обертів контролюють протягом всього часу перемішування. Гелева основа за допомогою насоса Н-16 направляється до ТП 8.

ТП 8. Гомогенізація гелю

Від ТП 5 надходить розчин допоміжних речовин, від ТП 6 отримують емульсію наночасток срібла, від ТП 7 отримують гелеву основу та подають у гомогенізатор Г-17. Гомогенізацію гелю проводять у гомогенізаторі Г-17 продуктивністю 35000 л/год протягом 20 хвилин за температури 40°C з одночасним вакуумуванням для уникнення процесу аерації у гелі. Проводять контроль основних показників: зовнішній вигляд гелю, однорідність, рН=5,5-6,5.

ТП 9. Фасування гелю у туби

Зі складу отримують алюмінієві туби та бушони, від ТП 8 отримують гомогенізований гель з наночастками срібла. Наповнення туб здійснюють з використанням автомату для фасування в алюмінієві туби АФ-18 продуктивністю 20 туб/хв по 10,0 г. Проводять контроль точності дозування, продуктивності автомату і правильність маркування туб (номер серії і термін придатності).

Туби з інструкцією до застосування вручну пакують у пачки. На пакувальному столі вручну проводять пакування пачок у коробки.

РОЗДІЛ 11. ОПИС ГЕЛЮ З НАНОЧАСТКАМИ СРІБЛА ЗГІДНО АНД

СКЛАД

Наночастки срібла, бісаболол, гіалуронова кислота, альгінат натрію, тригліцериди, гліцерин, ПЕГ-40 гідрогенізована касторова олія, Д-пантенол, тимол, диметикон, пропіленгліколь, сорбат калію, лізоциму гідрохлорид, сульфат цинку, вітаміни А і Е [112].

ЛІКАРСЬКА ФОРМА

Гель назальний.

ПОКАЗАННЯ

Застосовується як допоміжний засіб, що сприяє запобіганню гострих респіраторних вірусних захворювань, полегшення перебігу гострих запальних уражень носової порожнини і шкіри навколо носа.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

3 роки.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

Зберігати в оригінальній упаковці при температурі від 5 ° С до 25 ° С в сухому, захищеному від прямого сонячного світла і недоступному для дітей місці.

Не зберігати в холодильнику. Після відкриття медичний виріб можна застосовувати протягом 3 місяців [112].

УПАКОВКА

Туба з гелем 10 г у картонній коробці.

					НУХТ БТЕК 02.02.09 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Качківська М.О.			РОЗДІЛ 9. Опис гелю з наночастками срібла згідно АНД	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Пирог Т.П.					136	137
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

СПЕЦИФІКАЦІЯ НА ГЕЛЬ НАЗАЛЬНИЙ З НАНОЧАСТКАМИ СРІБЛА

Таблиця 11.1

№ п/п	Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
1	Опис	Колір кремовий із світлокоричневим відтінком зі специфічним запахом рослинної сировини.	За п.1 АНД, візуально, органолептично
2	Ідентифікація та кількісний вміст	Підтвердження окислення іонів срібла УФ-видимими спектрами. В 1 г гелю має міститись 0,05 мг наночастинок срібла.	За п.2 АНД
3	Антимікробна активність	Зони інгібування росту тест-культур мають становити 20-37 мм	За п.3 АНД
4	Однорідність	Однорідна маса в'язкої консистенції	За п.4 АНД
5	Супровідні домішки	Значення оптичної густини має відповідати нормованій концентрації аналізованої домішки	За п.5 АНД, ДФУ 2.2.25
6	Герметичність	Туби повинні бути герметичні	За п.6 АНД, ДФУ 2.0., Т.1
7	рН	Від 5,5 до 6,5	За п.7 АНД, ДФУ, 2.2.3, потенціометрично
8	Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) – не більше 10^2 КУО/г. Загальне число дріжджових та плісневих грибів (ГУМС) – не більше 10^1 КУО/г. Не	За п.8 АНД, ДФУ 5.1.4, 2.6.12, 2.6.13.

		допускається наявність <i>S. aureus</i> та <i>P. aeruginosa</i> в 1 г.	
9	Кислотне число	Поява рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 15 с	За п.9 АНД, ДФУ, 2.5.1
10	Перекисне число	Досягнення знебарвлення розчину	За п.10 АНД, ДФУ, 2.5.5
11	Маса вмісту упаковки	Маса вмісту у кожній тубі має бути не менше 10 г	За п.11 АНД, ДФУ 2.9.28
12	Пакування	Туби алюмінієві з внутрішнім лаковим покриттям (ТУ У 28.7-25463020006-2003)	За п.12 АНД
13	Термін і умови зберігання	3 роки при температурі + 5 – + 25°C	За п.13 АНД

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ

1. Опис. Визначення проводять візуально, органолептично. Колір креманий із світлокоричневим відтінком зі специфічним запахом рослинної сировини.

2. Ідентифікація та кількісний вміст. Визначають спектрофотометрично. Утворення Ag-наночасток визначається зміною кольору на темний червоно-коричневий, а окислення іонів срібла підтверджується УФ-видимими спектрами, що спостерігаються в діапазоні довжини хвилі 400–500 нм, визначеними за допомогою спостереження смуг поверхневого плазмонного резонансу (SPR) [101]. В 1 г гелю має міститись 0,05 мг наночасток срібла.

3. Антимікробна активність. Антибактеріальну та антифунгальну активність Ag-ЕПС-наночасток досліджують методом дифузії в агар. Два типових штами бактерій (*Pseudomonas aeruginosa* PAO1 і *Staphylococcus aureus* ATCC25923) та два штами грибів (*Candida albicans* ATCC 10231 і *Fusarium oxysporum* ATCC 48112) використовують як тест-культури. Для

культивування бактерій використовують середовище Лурія-Бертані. Штами грибів вирощують в картопляно-декстрозному середовищі (*F. oxysporum* ATCC 48112) і середовищі Сабуро (*C. albicans* ATCC 10231), відповідно. У лунки агару додають різні концентрації розчину Ag-ЕПС-наночасток (20, 50 і 100 мкл) та вимірюють зону інгібування росту тест-культури в мм. В якості контролю використовують розчини ЕПС, нітрату срібла та антибіотиків. Усі визначення проводять в трьох повторях. Зони інгібування росту тест-культур мають становити 20-37 мм [113].

4. Однорідність. Дослідження проводять за методикою, наведеною в монографії ДФУ 2.0., Т. 3 «М'які лікарські засоби, виготовлені в аптеках». По чотири проби досліджуваного зразка масою 20–30 мг, поміщали між двома предметними скельцями, притискаючи їх для утворення зон діаметром 2 см. Отримані проби розглядали на відстані 30 см від очей. Зразок гелю вважали однорідним, якщо в усіх чотирьох пробах не виявлялися видимі частинки, включення та ознаки фізичної нестабільності (розшарування). Якщо одна з проб не витримувала випробування, визначення проводили додатково ще на восьми пробах, всі з яких повинні витримувати даний тест [114].

5. Супровідні домішки. Дослідження проводять за методикою ДФУ 2.2.25. За вибраної довжини хвилі має бути встановлена оптична густина, відповідна нормованій концентрації аналізованої домішки [115].

6. Герметичність. Дослідження проводять за методикою, наведеною в ДФУ 2.0., Т.1. Відбирають 10 туб лікарського засобу і ретельно витирають їх зовнішні поверхні фільтрувальним папером. Туби поміщають у горизонтальному положенні на аркуш фільтрувального паперу і витримують у термостаті при температурі (60±3) °С протягом 8 год. На фільтрувальному папері не має бути патьоків із жодної з туб. Якщо патьоки спостерігаються лише з однієї туби, випробування проводять додатково ще з 20 тубами. Якщо патьоки спостерігаються більше як з однієї туби, результати випробування вважають незадовільними. Результати випробування вважають задовільними,

якщо не спостерігають патьоків з перших 10 туб або спостерігалися патьоки лише для однієї з 30 туб. Туби повинні бути герметичні [115].

7. рН. Значення рН встановлюють за методикою, що описана у ДФУ, п. 2.2.3 «Потенціометричне визначення рН». рН має становити від 5,5 до 6,5 [115].

8. Мікробіологічна чистота. Випробування проводять відповідно до вимог, зазначених в 2.6.12,N, 2.6.13; N; 5.1.4, N ДФУ. Посів на поживні середовища здійснюється методом мембранної фільтрації. 0,5 г гелю розчиняють у 5 мл розчину 9 г/л натрію хлориду, переносять у колбу, яка містить 100 мл того самого розчинника і негайно фільтрують крізь один мембранний фільтр. Після закінчення фільтрації мембрану промивають п'ятьма порціями по 100 мл розчину 9 г/л натрію хлориду, розрізають навпіл і вміщують у поживні середовища.

Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) – не більше 10^2 КУО/г. Загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) – не більше 10^1 КУО/г. Не допускається наявність *S. aureus* та *P. aeruginosa* в 1 г [115].

9. Кислотне число. Визначення проводять за методикою ДФУ 2.5.1 [115]. Близько 10,00 г або зазначену в окремій статті наважку речовини (г) розчиняють у 50 мл суміші рівних об'ємів спирту Р та ефіру Р, попередньо нейтралізованої 0,1 М розчином NaOH, якщо немає інших зазначень в окремій статті, використовуючи як індикатор 0,5 мл розчину фенолфталеїну Р1. Після розчинення випробовуваної речовини одержаний розчин титрують 0,1 М розчином калію гідроксиду до появи рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 15 с.

Кислотне число обчислюють за формулою:

$$I_A = \frac{5,610 \cdot n}{m},$$

n – кількість 0,1 М розчину калій гідроксиду, витраченого на титрування, в мл;

5,610 – кількість калію гідроксиду, що відповідає 1 мл 0,1 М розчину калію гідроксиду у мг;

m – маса наважки речовини, у г.

Якщо випробувана речовина не розчиняється у суміші розчинників, до колби приєднують зворотний холодильник і злегка нагрівають на теплій водяній бані при постійному перемішуванні до розчинення речовини. Потім додають 0,5 мл розчину фенолфталеїну Р1 і титрують 0,1 М розчином калію гідроксиду до появи рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 15 с.

Якщо об'єм 0,1 М розчину калію гідроксиду, необхідний для титрування, менше 2 мл, відповідним способом збільшують масу наважки випробовуваної речовини або використовують більш розведений титрант.

Якщо випробовувана речовина з метою консервації була насичена вуглецю діоксином, перед зважуванням її витримують у випарювальній чашці протягом 24 години у вакуум-ексикаторі [115].

10. Перекисне число. Визначення проводять за методикою ДФУ 2.5.5 [115].

Близько 5,00 г (точна наважка) речовини поміщають у конічну колбу з притертою скляною пробкою місткістю 250 мл, додають 30 мл суміші: хлороформ Р – кислота оцтова льодяна Р (2:3). Колбу струшують до розчинення речовини, додають 0,5 мл насиченого розчину калію йодиду Р, перемішують впродовж 1 хв і додають 30 мл води Р. Одержаний розчин титрують 0.01 М розчином натрію тіосульфату, повільно додаючи титрант при безперервному перемішуванні майже до повного зникнення жовтого забарвлення. Потім додають 5 мл розчину крохмалю Р і продовжують титрувати, інтенсивно перемішуючи до знебарвлення розчину.

Паралельно проводять контрольний дослід. Об'єм 0.01 М розчину натрію тіосульфату, витрачений на титрування в контрольному досліді, не має перевищувати 0.1 мл. Перекисне число (ІР) розраховують за формулою:

$$I_1 = \frac{10 \cdot (n_2 - n_1)}{m}$$

де: n_1 – об'єм 0.01 М розчину натрію тіосульфату, витрачений на титрування випробовуваної речовини, у мілілітрах; n_2 – об'єм 0.01 М розчину натрію тіосульфату, витрачений на титрування в контрольному досліді, у мілілітрах; t – маса наважки речовини, у грамах [115].

11. Маса вмісту упаковки. Визначення проводять за методикою ДФУ 2.9.28. Звільняють один контейнер якомога повніше Маса вмісту контейнера має бути не менше зазначеного на етикетці [116].

Маса вмісту у кожній тубі має бути не менше 10 г.

12. Пакування. Туби алюмінієві з внутрішнім лаковим покриттям (ТУ У 28.7-25463020006-2003).

13. Термін і умови зберігання. 3 роки при температурі + 5 – + 25 °С.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Dey G., Patil M.P., Banerjee A., Sharma R.K., et al. The role of bacterial exopolysaccharides (EPS) in the synthesis of antimicrobial silver nanomaterials: A state-of-the-art review. *J Microbiol Methods*. 2023; 212:106809.
2. Lahiri D., Nag M., Sheikh H.I., Sarkar T., et al. Microbiologically-Synthesized Nanoparticles and Their Role in Silencing the Biofilm Signaling Cascade. *Front Microbiol*. 2021; 12:636588.
3. Sathiyarayanan G., Dineshkumar K., Yang Y.-H. Microbial exopolysaccharide-mediated synthesis and stabilization of metal nanoparticles. *Crit. Rev. Microbiol*. 2017; 43:731–752.
4. Mahmoud Y.A.-G., El-Naggar M.E., Abdel-Megeed A., El-Newehy M. Recent advancements in microbial polysaccharides: synthesis and applications. *Polymers*. 2021; 13:4136.
5. Wao A.A., Singh S., Pandey A., Kant G. Microbial exopolysaccharides in the biomedical and pharmaceutical industries. *Heliyon*. 2023; 9(8):e18613.
6. Gahlawat, Geeta; Choudhury, Anirban Roy (2019). A review on the biosynthesis of metal and metal salt nanoparticles by microbes. *RSC Advances*, 9(23), 12944–12967. doi:10.1039/C8RA10483B.
7. Saravanan, Chinnashanmugam; Rajesh, Rajendiran; Kaviarasan, Thanamegam; Muthukumar, Krishnan; Kavitate, Digambar; Shetty, Prathap Kumar Halady (2017). Synthesis of silver nanoparticles using bacterial exopolysaccharide and its application for degradation of azo-dyes. *Biotechnology Reports*, 15, 33–40. doi:10.1016/j.btre.2017.02.006.
8. Riaz Rajoka, Muhammad Shahid; Mehwish, Hafiza Mahreen; Zhang, Haichao; Ashraf, Muhammad; Fang, Huiyan; Zeng, Xierong; Wu, Yiguang; Khurshid, Mohsin; Zhao, Liqing; He, Zhendan (2020). Antibacterial and antioxidant activity of exopolysaccharide mediated silver nanoparticle synthesized by *Lactobacillus brevis* isolated from Chinese koumiss. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 186, 110734–.doi:10.1016/j.colsurfb.2019.110734.

9. Gomaa, E. Z. (2016). Exopolysaccharide-mediated silver nanoparticles produced by *Lactobacillus brevis* NM101-1 as antibiotic adjuvant. *Microbiology*, 85(2), 207–219. doi:10.1134/S0026261716020077.
10. Kanmani, Paulraj; Lim, Seung Taik (2013). Synthesis and structural characterization of silver nanoparticles using bacterial exopolysaccharide and its antimicrobial activity against food and multidrug resistant pathogens. *Process Biochemistry*, 48(7), 1099–1106. doi:10.1016/j.procbio.2013.05.011.
11. Yumei, Li; Yamei, Li; Qiang, Li; Jie, Bao (2017). Rapid Biosynthesis of Silver Nanoparticles Based on Flocculation and Reduction of an Exopolysaccharide from *Arthrobacter* sp. B4: Its Antimicrobial Activity and Phytotoxicity. *Journal of Nanomaterials*, 2017(), 1–8. doi:10.1155/2017/9703614.
12. Thota, S.C., Sreelatha, B.S. (2020). Biosynthesis of silver nanoparticles and exopolysaccharide using novel Thermophilic strain (Ts-1) of *Bacillus amyloliquefaciens*. bioRxiv.
13. Zaki, Sahar; Etarahony, Marwa; Elkady, Marwa; Abd-El-Haleem, Desouky (2014). The Use of Bioflocculant and Bioflocculant-Producing *Bacillus mojavensis* Strain 32A to Synthesize Silver Nanoparticles. *Journal of Nanomaterials*, 2014, 1–7. doi:10.1155/2014/431089.
14. Emtiazi, G. (2015). The Influence of Microbacterium hominis and Bacillus licheniformis Extracellular Polymers on Silver and Iron Oxide Nanoparticles Production; Green Biosynthesis and Mechanism of Bacterial Nano Production. *Journal of Nanomaterials and Molecular Nanotechnology*. 04. 10.4172/2324-8777.1000160.
15. Aletayeb, P., Ghadam, P., & Mohammadi, P. (2020). Green synthesis of AgCl/Ag₃PO₄ nanoparticle using cyanobacteria and assessment of its antibacterial, colorimetric detection of heavy metals and antioxidant properties. *IET nanobiotechnology*, 14(8), 707–713. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2020.0077>.
16. Li, Shan-Wei; Zhang, Xing; Sheng, Guo-Ping (2016). Silver nanoparticles formation by extracellular polymeric substances (EPS) from

electroactive bacteria. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(9), 8627–8633. doi:10.1007/s11356-016-6105-7.

17. Mehta, Ananya; Sidhu, Chandni; Pinnaka, Anil Kumar; Roy Choudhury, Anirban; Shah, Vishal (2014). Extracellular Polysaccharide Production by a Novel Osmotolerant Marine Strain of *Alteromonas macleodii* and Its Application towards Biomineralization of Silver. *PLoS ONE*, 9(6), e98798–. doi:10.1371/journal.pone.0098798.

18. Ahmed, Khan Behlol Ayaz; Kalla, Divya; Uppuluri, Kiran Babu; Anbazhagan, Veerappan (2014). Green synthesis of silver and gold nanoparticles employing levan, a biopolymer from *Acetobacter xylinum* NCIM 2526, as a reducing agent and capping agent. *Carbohydrate Polymers*, 112(), 539–545. doi:10.1016/j.carbpol.2014.06.033.

19. El-Naggar, N. E., Hussein, M. H., Shaaban-Dessuuki, S. A., & Dalal, S. R. (2020). Production, extraction and characterization of *Chlorella vulgaris* soluble polysaccharides and their applications in AgNPs biosynthesis and biostimulation of plant growth. *Scientific reports*, 10(1), 3011. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59945-w>.

20. Patel, Vijay; Berthold, David; Puranik, Pravin; Gantar, Miroslav (2015). Screening of cyanobacteria and microalgae for their ability to synthesize silver nanoparticles with antibacterial activity. *Biotechnology Reports*, 5, 112–119. doi:10.1016/j.btre.2014.12.001.

21. Ansari, A., Pervez, S., Javed, U., Abro, M. I., Nawaz, M. A., Qader, S. A. U., & Aman, A. (2018). Characterization and interplay of bacteriocin and exopolysaccharide-mediated silver nanoparticles as an antibacterial agent. *International journal of biological macromolecules*, 115, 643–650. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.104>.

22. Sadaf, Raza; Asma, Ansari; Nadir, Naveed Siddiqui; Fariha, Ibrahim; Muhammad, Ishaque Abro; Afsheen, Aman (2021). Biosynthesis of silver nanoparticles for the fabrication of non cytotoxic and antibacterial metallic

polymer based nanocomposite system, *Scientific Reports*. doi:10.1038/s41598-021-90016-w.

23. Zhang, X. F., Liu, Z. G., Shen, W., & Gurunathan, S. (2016). Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. *International journal of molecular sciences*, 17(9), 1534. <https://doi.org/10.3390/ijms17091534>.

24. Hawa Jasni, A., Akbar Ali, A., Sagadevan, S., & Wahid, Z. (2021). Silver Nanoparticles in Various New Applications, *IntechOpen*. doi: 10.5772/intechopen.96105.

25. Ahmadi, Shahram. (2020). The Importance of Silver Nanoparticles in Human Life. 1. 23-27.

26. Husain S, Nandi A, Simnani FZ, Saha U, Ghosh A, Sinha A, Sahay A, Samal SK, Panda PK, Verma SK. (2023). Emerging Trends in Advanced Translational Applications of Silver Nanoparticles: A Progressing Dawn of Nanotechnology. *Journal of Functional Biomaterials*, 14,1, 47. <https://doi.org/10.3390/jfb14010047>.

27. Pradeepa, Vidya, S. M., Mutalik, S., Udaya Bhat, K., Huilgol, P., & Avadhani, K. (2016). Preparation of gold nanoparticles by novel bacterial exopolysaccharide for antibiotic delivery, *Life sciences*, 153, 171–179. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.04.022>.

28. Raveendran, Sreejith; Chauhan, Neha; Palaninathan, Vivekanandan; Nagaoka, Yutaka; Yoshida, Yasuhiko; Maekawa, Toru; Kumar, D. Sakthi (2015). Extremophilic Polysaccharide for Biosynthesis and Passivation of Gold Nanoparticles and Photothermal Ablation of Cancer Cells. *Particle & Particle Systems Characterization*, 32(1), 54–64. doi:10.1002/ppsc.201400081.

29. Scala, A., Piperno, A., Hada, A., Astilean, S., Vulpoi, A., Ginestra, G., Marino, A., Nostro, A., Zammuto, V., & Gugliandolo, C. (2019). Marine Bacterial Exopolymers-Mediated Green Synthesis of Noble Metal Nanoparticles with Antimicrobial Properties. *Polymers*, 11(7), 1157. <https://doi.org/10.3390/polym11071157>.

30. Singh, S., Sran, K. S., Pinnaka, A. K., & Roy Choudhury, A. (2019). Purification, characterization and functional properties of exopolysaccharide from a novel halophilic *Natronotalea sambharensis* sp. nov. *International journal of biological macromolecules*, 136, 547–558. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.080>.
31. Suganya, K. S., Govindaraju, K., Kumar, V. G., Dhas, T. S., Karthick, V., Singaravelu, G., & Elanchezhian, M. (2015). Blue green alga mediated synthesis of gold nanoparticles and its antibacterial efficacy against Gram positive organisms. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 47, 351–356. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.11.043>.
32. Qais, F. A., Ahmad, I., Altaf, M., & Alotaibi, S. H. (2021). Biofabrication of Gold Nanoparticles Using *Capsicum annuum* Extract and Its Antiquorum Sensing and Antibiofilm Activity against Bacterial Pathogens. *ACS omega*, 6(25), 16670–16682. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c02297>.
33. Rajkumari, J., Meena, H., Gangatharan, M., & Busi, S. (2017). Green synthesis of anisotropic gold nanoparticles using hordenine and their antibiofilm efficacy against *Pseudomonas aeruginosa*. *IET nanobiotechnology*, 11(8), 987–994. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2017.0069>.
34. A. Khan, et al. (2014). Gold nanoparticles: synthesis and applications in drug delivery. *Tropical journal of pharmaceutical research* 13 (7), 1169–1177.
35. Nejati-Koshki, Kazem & Dadashpour, Mehdi & Gharibi, Tohid & Mellatyar, Hassan & Akbarzadeh, Abolfazl. (2021). Biomedical Applications of Functionalized Gold Nanoparticles: A Review. *Journal of Cluster Science*. 33. 1-16. [10.1007/s10876-020-01955-9](https://doi.org/10.1007/s10876-020-01955-9).
36. Lopes, Talíria Silva; Alves, Gutemberg Gomes; Pereira, Mariana Rodrigues; Granjeiro, Jose Mauro; Leite, Paulo Emílio Corrêa (2019). Advances and potential application of gold nanoparticles in nanomedicine. *Journal of Cellular Biochemistry*, jcb.29044–. doi:10.1002/jcb.29044.

37. Elahi, Narges; Kamali, Mehdi; Baghersad, Mohammad Hadi (2018). Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review. *Talanta*, S0039914018302054–. doi:10.1016/j.talanta.2018.02.088.
38. Hammami, I., Alabdallah, N. M., jomaa, A. A., & kamoun, M. (2021). Gold nanoparticles: Synthesis properties and applications. *Journal of King Saud University - Science*, 33(7), 101560. doi:10.1016/j.jksus.2021.101560.
39. Hu, Xiaopei; Zhang, Yuting; Ding, Tingting; Liu, Jiang; Zhao, Hang (2020). Multifunctional Gold Nanoparticles: A Novel Nanomaterial for Various Medical Applications and Biological Activities. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 990–. doi:10.3389/fbioe.2020.00990.
40. Dwivedi, P., Nayak, V., & Kowshik, M. (2015). Role of gold nanoparticles as drug delivery vehicles for chondroitin sulfate in the treatment of osteoarthritis. *Biotechnology progress*, 31(5), 1416–1422. <https://doi.org/10.1002/btpr.2147>.
41. Garza-Cervantes, J. A., Escárcega-González, C. E., Barriga Castro, E. D., Mendiola-Garza, G., Marichal-Cancino, B. A., López-Vázquez, M. A., & Morones-Ramirez, J. R. (2019). Antimicrobial and antibiofilm activity of biopolymer-Ni, Zn nanoparticle biocomposites synthesized using *R. mucilaginosa* UANL-001L exopolysaccharide as a capping agent. *International journal of nanomedicine*, 14, 2557–2571. <https://doi.org/10.2147/IJN.S196470>.
42. Raj, R., Dalei, K., Chakraborty, J., & Das, S. (2016). Extracellular polymeric substances of a marine bacterium mediated synthesis of CdS nanoparticles for removal of cadmium from aqueous solution. *Journal of colloid and interface science*, 462, 166–175. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.10.004>.
43. Vignesh, Venkatasamy; Sathiyarayanan, Ganesan; Sathishkumar, Gnanasekar; Parthiban, Karuppaiah; Sathish-Kumar, Kamaraj; Thirumurugan, Ramasamy (2015). Formulation of iron oxide nanoparticles using exopolysaccharide: evaluation of their antibacterial and anticancer activities. *RSC Adv.*, 5(35), 27794–27804. doi:10.1039/C5RA03134F.

44. Bogutska, K., Sklyarov, Y.P. and Prylutsky, Y.I. (2013) Zinc and Zinc Nanoparticles: Biological Role and Application in Biomedicine. *Ukrainica Bioorganica Acta*, 1, 9-16.

45. Jiang, Jinhuan; Pi, Jiang; Cai, Jiye (2018). The Advancing of Zinc Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2018, 1–18. doi:10.1155/2018/1062562.

46. Pushpalatha, C., Suresh, J., Gayathri, V. S., Sowmya, S. V., Augustine, D., Alamoudi, A., Zidane, B., Mohammad Albar, N. H., & Patil, S. (2022). Zinc Oxide Nanoparticles: A Review on Its Applications in Dentistry. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 10, 917990. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.917990>.

47. Anand, G. Theophil; Nithiyavathi, R.; Ramesh, R.; John Sundaram, S.; Kaviyarasu, K. (2020). Structural and optical properties of nickel oxide nanoparticles: Investigation of antimicrobial applications. *Surfaces and Interfaces*, 18, 100460–. doi:10.1016/j.surfin.2020.100460.

48. Jaji, N., Lee, H.L., Hussin, M.H., Akil, H.M., Zakaria, M.R., & Othman, M.B. (2020). Advanced nickel nanoparticles technology: From synthesis to applications. *Nanotechnology Reviews*, 9, 1456 - 1480.

49. Iqbal, Anam; Iqbal, Kanwal; Li, Bo; Gong, Deyan; Qin, Wenwu (2017). Recent Advances in Iron Nanoparticles: Preparation, Properties, Biological and Environmental Application. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 17(7), 4386–4409. doi:10.1166/jnn.2017.14196.

50. Багрова Л. П. Перспективи використання суперпарамагнітних наночастинок в біотехнології та нанофармакології // **НОВІТНІ ДОСЯГНЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА НАНОФАРМАКОЛОГІЇ**: тези доповідей III Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 10-річчю кафедри біотехнології Національного авіаційного університету та 175-річчю кафедри фармакології Національного медичного університету ім. О.О.Богомольця (Київ, 22-23 жовтня 2015 р.). – С. 9-10.

51. Xu, Weihua & Yang, Ting & Liu, Shaobo & Du, Li & Chen, Qiang & Li, Xin & Dong, Jie & Zhang, Zhuang & Lu, Sihui & Gong, Youzi & Zhou, Liang & Liu, Yunguo & Tan, Xiaofei. (2022). Insights into the Synthesis, types and application of iron Nanoparticles: The overlooked significance of environmental effects. *Environment International*. 158. 106980. 10.1016/j.envint.2021.106980.

52. Peng, Dinghua; Wu, Bin; Tan, Hang; Hou, Siyu; Liu, Min; Tang, Hao; Yu, Jiang; Xu, Heng (2019). Effect of multiple iron-based nanoparticles on availability of lead and iron, and micro-ecology in lead contaminated soil. *Chemosphere*, 228, 44–53. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.04.106.

53. Попович В. І. Алергічний риніт: сучасні підходи до діагностики та лікування. *Український медичний часопис*. 2018, 3(1): 64-66.

54. Косаковський А. Л., Гавриленко Ю. В. Сучасний підхід до лікування гострого та хронічного аденоїдиту в дітей. *Український медичний часопис*. 2014, 2: 71-76.

55. Риніт: симптоми, причини виникнення та лікування [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://ameldental.com/uk/rinit-simptomi-prichini-viniknennya-ta-likuvannya/> .

56. Як одним пострілом вразити всі мішені, або Сучасне рішення для захисту від вірусів та бактерій [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.apteka.ua/article/617928>.

57. 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.

58. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Доповнення 4. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2020. — 600 с.

59. Вонс, Б. В., Мельник, Ю. Я., Грошовий, Т. А., Скорохода В. Й. & Чубка, М. Б. (2019). Реологічні дослідження гелю, що містить водний витяг з

ксенодерми, для місцевого лікування опіків. *Фармац. часопис*, 2, 30–35.
[doi:10.14739/2409-2932.2018.1.123731](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2018.1.123731).

60. Горицький, В.М., Сметаніна, К.І. (2012). Сучасний підхід до оптимізації технології олеогелів ранозагоюючої дії. *Медична гідрологія та реабілітація*, 10 (2), 103-106.

61. Промислова технологія лікарських засобів : базовий підручник для студ. вищ. навч. фармац. закладу (фармац. ф-тів) / Є. В. Гладух, О. А. Рубан, І. В. Сайко [та ін.]. — Х.: НФаУ :Оригінал, 2016. — 632 с.

62. Raina, Harshita & Jindal, Anil. (2017). Packaging of Non-Injectable Liquid Pharmaceuticals: A Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7, 248-257. 10.7324/JAPS.2017.70236.

63. *Aluminum tubes for the pharmaceutical industry: a classic that never goes out of style*. (2022). URL: <https://www.favia.it/en/aluminum-tubes-for-the-pharmaceutical-industry-a-classic-that-never-goes-out-of-style/> .

64. Saravanan Chinnashanmugam, Rajesh Rajendiran, Kaviarasan Thanamegam, Muthukumar Krishnan, Kavitate Digambar, Shetty Prathap Kumar Halady. Synthesis of silver nanoparticles using bacterial exopolysaccharide and its application for degradation of azo-dyes. *Biotechnology Reports*. 2017; 15: 33–40. doi:10.1016/j.btre.2017.02.006.<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2215017X17300516>

65. Aletayeb Parisa, Ghadam Parinaz, Mohammadi Parisa. Green synthesis of AgCl/Ag₃PO₄ nanoparticle using cyanobacteria and assessment of its antibacterial, colorimetric detection of heavy metals and antioxidant properties. *IET Nanobiotechnology*. 2020; 14, 707. 10.1049/iet-nbt.2020.0077. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33108328/>

66. El-Naggar Noura El-Ahmady, Hussein Mervat H., Shaaban-Dessuuki Sami A., Dalal Shimaa R. Production, extraction and characterization of *Chlorella vulgaris* soluble polysaccharides and their applications in AgNPs biosynthesis and biostimulation of plant growth. *Scientific Reports*. 2020; 10(1): 3011. doi:10.1038/s41598-020-59945-w. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32080302/>

67. Garza-Cervantes J.A., et al. Antimicrobial and antibio-film activity of biopolymer-Ni, Zn nanoparticle biocomposites synthesized using *R. mucilaginosa* UANL-001L exopolysaccharide as a capping agent. *Int J Nanomedicine*. 2019;14:2557-2571. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6498977/>

68. Raveendran Sreejith, Chauhan Neha, Palaninathan Vivekanandan, Nagaoka Yutaka, Yoshida Yasuhiko, Maekawa Toru, Kumar D. Sakthi. Extremophilic Polysaccharide for Biosynthesis and Passivation of Gold Nanoparticles and Photothermal Ablation of Cancer Cells. *Particle & Particle Systems Characterization*. 2015; 32(1): 54–64. doi:10.1002/ppsc.201400081. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ppsc.201400081>

69. Vignesh Venkatasamy, Sathiyarayanan Ganesan, Sathishkumar Gnanasekar, Parthiban Karuppaiah, Sathish-Kumar Kamaraj, Thirumurugan Ramasamy Formulation of iron oxide nanoparticles using exopolysaccharide: evaluation of their antibacterial and anticancer activities. *RSC Adv*. 2015; 5(35): 27794–27804. doi:10.1039/C5RA03134F. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/ra/c5ra03134f>

70. Vazquez-Rodriguez Augusto; Vasto-Anzaldo Ximena G; Barboza Perez Daniel; Vázquez-Garza Eduardo; Chapoy-Villanueva Héctor; García-Rivas Gerardo; Garza-Cervantes Javier A.; Gómez-Lugo Jéssica J.; Gomez-Loredo Alma Elizabeth; Garza Gonzalez Maria Teresa; Zarate Xristo; Morones-Ramirez Jose Ruben. Microbial Competition of *Rhodotorula mucilaginosa* UANL-001L and *E. coli* increase biosynthesis of Non-Toxic Exopolysaccharide with Applications as a Wide-Spectrum Antimicrobial. *Scientific Reports*. 2018, 8(1): 798–. doi:10.1038/s41598-017-17908-8. <https://www.nature.com/articles/s41598-017-17908-8>

71. Ahmad N. H., Mustafa S., & Che Man Y. B. Microbial Polysaccharides and Their Modification Approaches: A Review. *International Journal of Food Properties*. 2014; 18(2): 332–347.

72. Nayak A. K., Ahmed S.A., Tabish M., & Hasnain M. S. Natural polysaccharides in tissue engineering applications. *Natural Polysaccharides in Drug Delivery and Biomedical Applications*. 2019; 531–548.

73. ГРИП ТА ГРВІ В УКРАЇНІ ІНФОРМАЦІЙНИЙ БЮЛЕТЕНЬ 11 тиждень (13–19.03.2023) [Електронний ресурс] Режим доступу: https://phc.org.ua/sites/default/files/users/user90/flu_operinfo_2023_11.pdf.

74. Дефлю Захист Ніс гель по 10 г у тубах [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://tabletki.ua/uk/%D0%94%D0%B5%D1%84%D0%BB%D1%8E-%D0%97%D0%B0%D1%89%D0%B8%D1%82%D0%B0-%D0%9D%D0%BE%D1%81/1042092/>.

75. Silver Nanoparticles тубах [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.americanelements.com/silver-nanoparticles-7440-22-4>.

76. Hubbuch J., & Kula M.-R. Isolation and Purification of Biotechnological Products. *Journal of Non-Equilibrium Thermodynamics*. 2007; 32(2). 99-127.

77. Розділення неоднорідних систем [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://kc.pnu.edu.ua/wp-content/uploads/sites/11/2021/02/Processes-and-apparatus-of-chemical-productionLecture6.pdf>

78. Методичні вказівки до практичних занять дисципліни «Гідромеханічні та тепло-масообмінні процеси хімічних технологій» для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня спеціальності 161 «Хімічні технології та інженерія» / Укл. Волошин М.Д.. – Кам'янське: ДДТУ, 2018 р. – 24 с. Укр. мовою.

79. What Is Protein Precipitation. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.allthescience.org/what-is-protein-precipitation.htm>.

80. Principals of various protein precipitation methods [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://bioquochem.com/principals-of-various-protein-precipitation-methods/>.

81. Koontz L. TCA precipitation. *Methods Enzymol*. 2014; 541:3-10.

82. Карлаш Ю.В. Основи проектування біотехнологічних виробництв. [Електронний ресурс]: конспект лекцій для здобувачів освітнього ступеня

«бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» освітньо-професійної програми «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання /Ю.В. Карлаш, Є.О. Омельчук - К: НУХТ, 2019. – 252 с.

83. Данилов І. П. Апарати мікробіологічної промисловості [Текст]: навч. посібник І. П. Данилов, С. І Самійленко.-Харків : НТУ «ХПІ», 2008. – 272.

84. Li Y., Liu Y., Cao C., et al. Extraction and biological activity of exopolysaccharide produced by *Leuconostoc mesenteroides* SN-8. *Int J Biol Macromol.* 2020; 157:36-44.

85. Ziadi M., Bouzaiene T., M'Hir S., et al. Evaluation of the Efficiency of Ethanol Precipitation and Ultrafiltration on the Purification and Characteristics of Exopolysaccharides Produced by Three Lactic Acid Bacteria. *BioMed Research International.* 2018; 1–11.

86. Andhare P., Goswami D., Delattre C. *et al.* Edifying the strategy for the finest extraction of succinoglycan from *Rhizobium radiobacter* strain CAS. *Appl Biol Chem.* 2017; 60: 339–348.

87. Buksa K., Kowalczyk M., & Boreczek J. Extraction, purification and characterisation of exopolysaccharides produced by newly isolated lactic acid bacteria strains and the examination of their influence on resistant starch formation. *Food Chemistry.* 2021; 362: 130221.

88. Сидоров Ю. І. Розпилювальні сушарки в біотехнології. *Biotechnology.* 2012; 5 (4): 46-54.

89. Лиса Я. П. Дослідження впливу температури як параметра процесу ліофілізації. *Вісник Кременчуцького національного університету імені Михайла Остроградського.* 2013; 5: 184-189.

90. Інноваційне обладнання галузі. Змістовий модуль 1. Виробництво препаратів мікробіологічного синтезу [Електронний ресурс]: конспект лекцій для здобувачів освітнього ступеня «Магістр» спеціальності 133 «Галузеве машинобудування» освітньо-професійної програми «Інжиніринг фармацевтичних та біотехнологічних виробництв» денної та заочної форм

навчання / О.О. Губеня, В.І. Теличкун, М.Г. Десик, Ю.С. Теличкун. – К.: НУХТ, 2020. – 278 с.

91. Tan Z., Li F., Xu X., & Xing J. Simultaneous extraction and purification of aloe polysaccharides and proteins using ionic liquid based aqueous two-phase system coupled with dialysis membrane. *Desalination*. 2012; 286: 389–393.

92. Ó’Fágáin C., Cummins P. M., & O’Connor B. F. Gel-Filtration Chromatography. *Protein Chromatography*. 2016; 15–25.

93. Карлаш, Ю. В. Основи проєктування біотехнологічних виробництв [Електронний ресурс] : навч. посібник / Ю. В. Карлаш, В. О. Красінько ; Національний університет харчових технологій. – Київ : НУХТ, 2022. – 373 с.

94. Процеси та апарати біотехнологічних виробництв [Електронний ресурс] : методичні рекомендації до вивчення дисципліни та виконання контрольних робіт для здобувачів освітнього ступеня “Бакалавр” спеціальності 162 “Біотехнології та біоінженерія” освітньо-професійної програми “Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна” заочної форми навчання / укладачі : В. Л. Зав’ялов, Т. Г. Мисюра, Л. В. Зоткіна, Ю. В. Запорожець ; Національний університет харчових технологій. – Київ : НУХТ, 2021. – 33 с.

95. Тара та пакувальні матеріали [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://estiw.ua/info/package-n-marking/package>.

96. Єгоров Б.В., Кананихіна О.М., Турпурова Т.М., Технологія виробництва білково-вітамінної добавки біотехнологічним методом. *Scientific Works*. 2018; 82(2), 4-9.

97. Kruger N.J. The Bradford Method For Protein Quantitation. In: Walker, J.M. (eds) *The Protein Protocols Handbook*. Springer Protocols Handbooks. Humana Press, Totowa, NJ. 2009. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-198-7_4.

98. The Bradford Assay: Colorimetric Protein Determination with Coomassie Blue [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.bio-rad.com/en-ua/feature/bradford-assay.html>.

99. Определение концентрации белка. Метод Бредфорда [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://lifelib.info/microbiology/practical/32.html>
100. Пирог Т.П., Іванушкіна Г.О., Гарбарчук С.О. Модифікація вагового методу кількісного визначення полісахариду етаполану. *Харчова промисловість*. 2008; 7: 14-16.
101. Sardari R. R. R., Kulcinskaja E., Ron E. Y. C., et al. Evaluation of the production of exopolysaccharides by two strains of the thermophilic bacterium *Rhodothermus marinus*. *Carbohydrate Polymers*. 2017; 156: 1–8. doi:10.1016/j.carbpol.2016.08.062
102. Derdak R., Sakoui S., Pop O.L., et al. Screening, optimization and characterization of exopolysaccharides produced by novel strains isolated from Moroccan raw donkey milk. *Food Chem X*. 2022; 14:100305.
103. Fooladi T., Soudi M.R., Alimadadi N., Samedoroudi P., Heravi M.M. Bioactive exopolysaccharide from *Neopetalotriopsis* sp. strain SKE15: Production, characterization and optimization. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;129:127–139.
104. Визначення масової частки вологи в харчових продуктах та сировині [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://cpo.stu.cn.ua/Oksana/harch_himia_lab_prakt/80.html
105. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 Лікарські засоби. Належна виробнича практика.
106. Методичні рекомендації щодо виконання санітарно-гігієнічних вимог та проведення мікробіологічного контролю у виробництві нестерильних лікарських засобів. Наказ N 502 від 14.12.2001. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0502282-01#Text>
107. Інструкція з використання дезінфікуючого засобу «VASEPT forte» [Електронний ресурс]. Режим доступу: [file:///C:/Users/LENOVO/Downloads/Інструкція%20з%20використання%20VASEPT%20forte%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/LENOVO/Downloads/Інструкція%20з%20використання%20VASEPT%20forte%20(2).pdf)

108. Дезекон [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://uk.interdez.com.ua/product/dezekon-unvcpd>
109. Виндез ЧАС-С 1л Дезинфекция поверхностей и ИМН [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://prom.ua/p657394633-vindez-chas-dezinfektsiya.html>
110. Санікон [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://uk.interdez.com.ua/product/dezinficiruyuschee-sredstvo-sanikon-interdez-kiev>
111. Карлаш Ю.В. Основи проектування біотехнологічних виробництв: Конспект лекцій для студентів напряму 6.051401 «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання / Уклад.: Ю.В. Карлаш – К: НУХТ, 2013. – 143 с.
112. Дефлю Захист Ніс гель по 10 г у тубах (2022). URL: <https://tabletki.ua/uk/%D0%94%D0%B5%D1%84%D0%BB%D1%8E-%D0%97%D0%B0%D1%89%D0%B8%D1%82%D0%B0-%D0%9D%D0%BE%D1%81/1042092/>.
113. Yumei, Li, Yamei, Li, Qiang, Li & Jie, Bao. (2017). Rapid Biosynthesis of Silver Nanoparticles Based on Flocculation and Reduction of an Exopolysaccharide from *Arthrobacter* sp. B4: Its Antimicrobial Activity and Phytotoxicity. *Journal of Nanomaterials*, 1–8. doi:10.1155/2017/9703614.
114. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. — Т. 3. — 732 с.
115. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. — Т. 1. — 1128 с.
116. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — 520 с.

*Research Article***Rapid Biosynthesis of Silver Nanoparticles Based on Flocculation and Reduction of an Exopolysaccharide from *Arthrobacter* sp. B4: Its Antimicrobial Activity and Phytotoxicity**

Li Yumei, Li Yamei, Li Qiang, and Bao Jie

School of Biological Science and Biotechnology, University of Jinan, Shandong, China

Correspondence should be addressed to Li Yumei; mls_llym@ujn.edu.cn

Received 5 November 2016; Accepted 27 February 2017; Published 3 April 2017

Academic Editor: Jobin Cyriac

Copyright © 2017 Li Yumei et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Silver nanoparticles (AgNPs) were rapidly synthesized using an exopolysaccharide from *Arthrobacter* sp. B4 (B4-EPS). The optimum condition for AgNPs synthesis was under the concentration of 5 g/L B4-EPS and 1 mM AgNO₃ at 80°C between pH 7.0 and 8.0. The resulting AgNPs displayed a face-centred-cubic structure with the size range from 9 nm to 72 nm. Further analysis showed that flocculation and reduction of B4-EPS played a pivotal role in the formation of AgNPs. Furthermore, these nanoparticles exhibited great stability, excellent antimicrobial activity, and low phytotoxicity. The aforementioned data provide a feasible and efficient approach for green synthesis of AgNPs using microbial polysaccharides with flocculation and reduction activity, which will be promising in medical field.

1. Introduction

Silver nanoparticles (AgNPs) have been widely used in the field of medicine, food, cosmetics, clothing, chemical conversion, and sensing due to their excellent antimicrobial, catalytic, conductive, and optic properties [1, 2]. Synthesis of AgNPs via chemical and physical methods has been extensively developed in the last decade. Chemical reduction of silver ions is one of the most common ways to produce AgNPs, which was achieved by some chemical reducing agents such as sodium borohydride, sodium citrate and N,N-dimethyl formamide, and sodium dodecyl sulfate [3–5]. On the other hand, some physical methods including sputter deposition, laser ablation or cluster beam deposition, and thin films have also been exploited to synthesize AgNPs [6–8]. However, some chemical and physical methods are quite expensive and hazardous, thus the resulting AgNPs have been found to cause potent cytotoxicity [9]. Alternatively, biological materials such as bacteria, fungus, yeasts, actinomycetes, plant leaf or seed, and some biomolecules have been stated as safe to synthesize metal nanoparticles on extra/intercellular level [10–13].

Recently, some natural polysaccharides or their derivatives such as cellulose, chitosan, starch, and sulfated chitosan have been applied to produce nontoxic AgNPs [14–18]. By contrast, microbial polysaccharides have higher reducibility because of their diverse chemical constituents and complex structures. AgNPs have been synthesized by several commercial microbial polysaccharide gums, such as gellan gum and pullulan, which exhibited a strong antimicrobial activity [19, 20]. In addition, polysaccharide-based bioflocculants from marine *Bacillus subtilis* MSBN17 and *Streptomyces* sp. MBRC-91 were also able to contribute to the high-performance production of AgNPs since they easily form a variety of liquid crystals in aqueous solutions [21, 22]. However, the mechanism of AgNP synthesis mediated by flocculated polysaccharide and the bioactivity and toxicity of these nanoparticles were unknown yet.

In our previous study, we discovered that the exopolysaccharide from *Arthrobacter* sp. B4 (B4-EPS) had high flocculation and reduction activity [23, 24]. Hence, B4-EPS was used for synthesis of AgNPs in our present work. The relative parameters and the plausible mechanism behind

Arthrobacter sp. B4 was grown in a medium consisted of 16g/L glucose, 2.5g/L yeast extract, and 5g/L KH₂PO₄, then cultivated at 30°C with shaking at 200rpm for 72h. The resulting fermentation broth was centrifuged at 10,000g for 20min. The cell-free supernatant was obtained as the liquid BFBA, which was used for the flocculation experiments....

ДОДАТОК Б

23. Антимікробна активність наночастинок, синтезованих за наявності мікробних екзополісахаридів

Марина Качківська¹, Тетяна Пірог^{1,2}

¹ – Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

² – Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ, Київ, Україна

Вступ. Останнім часом зростає інтерес дослідників до наночастинок металів через їх інноваційне застосування в різних галузях промисловості. Бактеріальні екзополісахариди (ЕПС) – це позаклітинні полімери вуглеводної природи, яким притаманні різноманітні біологічні функції, зокрема, захист клітин від несприятливих факторів, участь у прикріпленні до поверхні та взаємодії між клітинами. ЕПС досліджуються як агенти для утворення біогенних наночастинок ряду металів завдяки здатності відновлювати іони металів під час синтезу наночастинок і стабілізувати їх, діючи як блокуючі агенти.

Матеріали та методи. Матеріали дослідження представлені сучасними науковими працями зарубіжних вчених у провідних періодичних і спеціалізованих виданнях, що присвячені дослідженню біосинтезу наночастинок металів за наявності мікробних екзополісахаридів.

Результати та обговорення. Наночастинки металів широко досліджувалися завдяки їх антимікробній, протипухлинній та каталітичній активності, а також магнітним та оптичним властивостям. Найважливішою властивістю наночастинок металів є велике відношення площі поверхні до об'єму, що збільшує їх взаємодію з іншими молекулами. Наявність таких унікальних характеристик робить наночастинки металів перспективними для застосування у різноманітних сферах (біохімічні сенсори, електронне обладнання, каталізатори, біоаналіз, візуалізація пухлин, доставка ліків тощо).

Дослідження *Rhodospirillum rubrum* UANI-0011, як біологічного агента засвідчило можливість використання синтезованих ним ЕПС слугувати блокуючим агентом у синтезі наночастинок Zn та Ni. Штам UANI-0011, продукував 413,9 мг/мл ЕПС. Максимальний лік поглинання для Zn-ЕПС- і Ni-ЕПС-наночастинок становив 347 і 348 нм відповідно. ZnO-ЕПС-наночастинки з діаметром 4-11 нм (середній діаметр 8,32 ± 1,99 нм) мали поліморфну форму з характерною гексагональною геометрією. Для NiO-ЕПС-НЧ з діаметром 17-52 нм (середній діаметр 26,73 ± 8,99 нм) була характерна ромбодрічна геометрія. Дзета-потенціал становив -84,3, -8,6 і -76,1 мВ для Zn-ЕПС-, і Ni-ЕПС-наночастинок та ЕПС, відповідно. Наночастинки Ni-ЕПС проявляли антимікробну (інгібування росту на 80-90%) та антибіоплівкову активність (інгібування біоплівки на 80-90%) щодо *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* за концентрації 3 і 2 мг/мл відповідно. Наночастинки Zn-ЕПС (1 мг/мл) проявляли антимікробну активність щодо *S. aureus* (інгібування росту на 90%) Синтезовані наночастинки були нетоксичними: після введення 24 мг/кг маси тіла самців щурів не порушувалася функція нирок.

Висновки. Таким чином, синтезовані за участю ЕПС *R. rubrum* UANI-0011 наночастинки металів завдяки комплексу біологічних та фізико-хімічних властивостей є перспективними для використання у медицині та фармацевтичній галузі.

Антимікробна активність наночастинок, синтезованих за наявності мікробних екзополісахаридів

Марина Качківська¹, Тетяна Пірог^{1,2}

¹ – Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

² – Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ, Київ, Україна

Вступ

Останнім часом зростає інтерес дослідників до наночастинок металів через їх інноваційне застосування в різних галузях промисловості. Бактеріальні екзополісахариди (ЕПС) – це позаклітинні полімери вуглеводної природи, яким притаманні різноманітні біологічні функції, зокрема, захист клітин від несприятливих факторів, участь у прикріпленні до поверхні та взаємодії між клітинами. ЕПС досліджуються як агенти для утворення біогенних наночастинок ряду металів завдяки здатності відновлювати іони металів під час синтезу наночастинок і стабілізувати їх, діючи як блокуючі агенти.

Матеріали та методи

Матеріали дослідження представлені сучасними науковими працями зарубіжних вчених у провідних періодичних і спеціалізованих виданнях, що присвячені дослідженню біосинтезу наночастинок металів за наявності мікробних екзополісахаридів.

Результати та обговорення

Наночастинки металів широко досліджувалися завдяки їх антимікробній, протипухлинній та каталітичній активності, а також магнітним та оптичним властивостям. Найважливішою властивістю наночастинок металів є велике відношення площі поверхні до об'єму, що збільшує їх взаємодію з іншими молекулами. Наявність таких унікальних характеристик робить наночастинки металів перспективними для застосування у різноманітних сферах (біохімічні сенсори, електронне обладнання, каталізатори, біоаналіз, візуалізація пухлин, доставка ліків тощо).

Дослідження *Rhodospirillum rubrum* UANI-0011, як біологічного агента засвідчило можливість використання синтезованих ним ЕПС слугувати блокуючим агентом у синтезі наночастинок Zn та Ni. Штам UANI-0011, продукував 413,9 мг/мл ЕПС. Максимальний лік поглинання для Zn-ЕПС- і Ni-ЕПС-наночастинок становив 347 і 348 нм відповідно. ZnO-ЕПС-наночастинки з діаметром 4-11 нм (середній діаметр 8,32 ± 1,99 нм) мали поліморфну форму з характерною гексагональною геометрією. Для NiO-ЕПС-НЧ з діаметром 17-52 нм (середній діаметр 26,73 ± 8,99 нм) була характерна ромбодрічна геометрія. Дзета-потенціал становив -84,3, -8,6 і -76,1 мВ для Zn-ЕПС-, і Ni-ЕПС-наночастинок та ЕПС, відповідно. Наночастинки Ni-ЕПС проявляли антимікробну (інгібування росту на 80-90%) та антибіоплівкову активність (інгібування біоплівки на 80-90%) щодо *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* за концентрації 3 і 2 мг/мл відповідно. Синтезовані наночастинки були нетоксичними: після введення 24 мг/кг маси тіла самців щурів не порушувалася функція нирок.

Висновки

Таким чином, синтезовані за участю ЕПС *R. rubrum* UANI-0011 наночастинки металів завдяки комплексу біологічних та фізико-хімічних властивостей є перспективними для використання у медицині та фармацевтичній галузі.

