

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

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

«До захисту в ЕК»
Директор інституту (декан факультету)
Наталія ГРЕГІРЧАК
(підпис) (прізвище та ініціали)

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

« » лютого 2024 р.

« » 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: Біологічно активні речовини мікробного походження для космецевтики

Виконав: здобувач 2 курсу, групи 2

ЗЬОЛКО Тетяна Василівна

(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

(підпис)

Керівник ПЕНЧУК Юрій Миколайович

(прізвище, ім'я та по батькові повністю)

(підпис)

Консультанти

(прізвище та ініціали)

(підпис)

(прізвище та ініціали)

(підпис)

Рецензент

ЦЕЙСЛЕР Ю.В.

(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

ЗЬОЛКО Тетяни Василівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Біологічно активні речовини мікробного походження для космецевтики

керівник роботи ПЕНЧУК Юрій Миколайович, к.б.н., доц.

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від 06 листопада 2023 року № 913-кС

2. Строк подання здобувачем роботи 05.02.2024

3. Вихідні дані до роботи : біологічний агент: *Xanthomonas maltophilia* VT-112, цільовий продукт: арбутин

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити):
Реферат, Вступ, РОЗДІЛ 1. Огляд літератури, РОЗДІЛ 2. Техніко-економічне обґрунтування виробництва космецевтичного засобу (КЗ), РОЗДІЛ 3. Обґрунтування етапів виділення та очищення субстанції для одержання КЗ, РОЗДІЛ 4. Підбір технологічного обладнання з урахуванням матеріальних потоків по стадіях отримання субстанції (для етапів виділення та очищення субстанції), РОЗДІЛ 5. Контроль виробництва субстанції для КЗ, РОЗДІЛ 6. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання КЗ, РОЗДІЛ 7. Специфікація обладнання для отримання сироватки з арбутином. РОЗДІЛ 8. Опис технологічної схеми, РОЗДІЛ 9. Опис космецевтичного засобу згідно з АНД (Проект АНД).

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема отримання арбутину – аркуш А1; Апаратурна схема отримання арбутину – аркуш А1.

6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання 30 жовтня 2023 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	РОЗДІЛ 1. Огляд літератури	01.11.2023р. - 13.11.2023р.	
2	РОЗДІЛ 2. Техніко-економічне обґрунтування виробництва космецевтичного засобу (КЗ)	13.11.2023р.- 16.11.2023р.	
3	РОЗДІЛ 3. Обґрунтування етапів виділення та очищення субстанції для одержання КЗ	16.11.2023р.- 22.11.2023р.	
4	РОЗДІЛ 4. Підбір технологічного обладнання з урахуванням матеріальних потоків по стадіях отримання субстанції (для етапів виділення та очищення субстанції)	22.11.2023р.- 25.11.2023р.	
5	РОЗДІЛ 5. Контроль виробництва субстанції для КЗ	25.11.2023р.- 31.11.2023р.	
6	РОЗДІЛ 6. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання КЗ	31.11.2023р.- 04.12.2023р.	
7	РОЗДІЛ 7. Специфікація обладнання для отримання сироватки з арбутином	04.12.2023р.- 11.12.2023р.	
8	РОЗДІЛ 8. Опис технологічної схеми	11.12.2023р.- 15.12.2023р.	
9	РОЗДІЛ 9. Опис космецевтичного засобу згідно з АНД (Проект АНД)	15.12.2023р.- 22.12.2023р.	
10	Оформлення апаратурних та технологічних схем	22.12.2023р.- 09.01.2024р.	
11	Оформлення вступу та реферату	09.01.2024р.- 15.01.2024р.	

Здобувач

_____ (підпис)

Тетяна ЗЬОЛКО

_____ (ім'я та прізвище)

Керівник роботи

_____ (підпис)

Юрій ПЕНЧУК

_____ (ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Тема даного курсового проекту включає проектування технології виділення та очищення арбутину, який отримують методом періодичного бродіння з підживленням. Продуцентом стала аеробна грамнегативна бактерія *Xanthomonas maltophilia* ВТ-112. При цьому концентрація арбутину досягала показника 61,7 г/л.

Так, як арбутин є інгібітором тирозинази, то він широко використовується для освітлення шкіри та лікування гіперпігментації, внаслідок порушення утворення шкірного пігменту. Діє арбутин без побічних ефектів, таких як подразнення, алергічний контактний дерматит та інша цитотоксичність. Дана біологічно активна речовина (БАР) широко використовується у медицині та косметичній промисловості. На сьогоднішній день на території України більшість косметичної продукції з арбутином є імпортною та постачається з-за кордону, тому необхідним є дослідження виробництва арбутину вітчизняного походження.

Внаслідок опрацювання інформаційних джерел в рамках техніко-економічного обґрунтування визначили, що вироблення арбутину для лікування гіперпігментації буде сягати кількості 46,9 кг/рік.

Технологічна схема одержання космецевтичного арбутину складається з наступних етапів: відділення клітинної біомаси за допомогою центрифугування, адсорбційна хроматографія з 25% водним розчином етанолу, концентрування арбутину вакуум-випарюванням, а також вакуумне заморожування та висушування, що реалізується сублімаційним методом.

Курсовий проєкт складається із реферату, вступу, 9 розділів, списку використаної літератури, додатку, апаратурної схеми формату А1 та технічної схеми формату А3. В проєкті використано 86 літературних джерел, кількість сторінок – 105. Робота містить 12 таблиць, 3 рисунки.

Ключові слова: космецевтика, біологічно активні речовини, мікробний синтез, арбутин, *Xanthomonas maltophilia*, гіперпігментація, культивування, сублімаційне висушування.

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	3
ЗМІСТ	4
ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	8
1.1. Сутність поняття «космецевтика» та її вплив на шкіру.....	8
1.2. Механізми дії космецевтики на шкіру та організм в цілому.....	10
1.3. Характеристика речовин, що можуть використовуватись у космецевтиці.....	14
1.4. Характеристика форм випуску космецевтики	21
1.5. Одержання космецевтики мікробним синтезом	23
1.6. Одержання космецевтики ферментативним шляхом.....	26
1.7. Альтернативні джерела космецевтики	36
РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА КОСМЕЦЕВТИЧНОГО ЗАСОБУ (КЗ).....	40
2.1. Аналіз фармакологічних властивостей цільового косметичного засобу на основі обраної субстанції, галузей використання, потреби у косметичному засобі (нинішня та враховуючи перспективи)	40
2.2. Обґрунтування вибору форми випуску космецевтичного засобу (КЗ). 41	
2.2.1. Обґрунтування форми випуску КЗ.....	41
2.2.2. Обґрунтування вибору первинної упаковки	42
2.3. Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання субстанції для інженерної частини роботи	45
2.4. Розрахунок потреби у субстанції для випуску косметичного засобу та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції (кінцеві цифри - загальний об'єм культуральної рідини за рік та об'єм культуральної рідини за цикл).....	50
РОЗДІЛ 3. ОБҐРУНТУВАННЯ ЕТАПІВ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ КЗ	52
3.1. Відділення біомаси	52
3.2. Виділення та очищення арбутину	53
3.3. Випарювання та концентрування.....	56
3.4. Заморожування та вакуумне висушування	57
РОЗДІЛ 4. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З УРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ (ДЛЯ ЕТАПІВ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ).....	60
РОЗДІЛ 5. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ КЗ.....	63

РОЗДІЛ 6. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ КЗ.....	68
6.1. Розрахунок річної потужності виробництва КЗ та кількості серій на рік	68
6.2. Обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень.....	69
6.3. Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки	75
6.4. Обґрунтування вибору підготовки води.....	76
6.5. Вибір технологічних стадій та операцій, обладнання.....	80
РОЗДІЛ 7. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ОТРИМАННЯ СИРОВАТКИ З АРБУТИНОМ.....	82
РОЗДІЛ 8. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	85
РОЗДІЛ 9. ОПИС КОСМЕЦЕВТИЧНОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД (ПРОЕКТ АНД)	88
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	92
ДОДАТКИ.....	103

ВСТУП

Бажання мати доглянуту та здорову шкіру завжди було тенденцією людства. У наш час широко розвивається косметична промисловість, відкривається велика кількість приватних косметологічних кабінетів, які допомагають покращувати зовнішній вигляд та здоров'я шкіри в цілому.

Інгредієнти космецевтики представлені фітохімічними речовинами, вітамінами, пептидами, ензимами, ефірними оліями, що входять до складу лосьйонів, кремів та розчинів, призначених для лікування шкіри. Широко використовуються сполуки, що проявляють антиоксидантні, антивікові, протимікробні, сонцезахисні, відбілюючі властивості, борються з ознаками старіння шкіри та проявами шкірних захворювань (Antonopoulou, 2016; Alves, 2020).

Через токсичність більшості хімічних компонентів космецевтики, виробники надають перевагу використанню природних сполук, отриманих з рослин, морських організмів або мікроорганізмів, замість синтетичних. Бензалконію хлорид, сліди металів, фталати, феноксіетанол, діоксан, формальдегід, парабени тощо - хімічні косметичні добавки з потенційним або встановленим профілем токсичності. У нативних компонентів не тільки відсутній негативний вплив на шкіру та здоров'я людини (у належних концентраціях), але й присутні корисні властивості для шкіри. Тим паче натуральна косметика викликає довіру споживача.

Ферментативний біосинтез біологічно активних речовин (БАР) з використанням мікроорганізмів має певні переваги в порівнянні із хімічним синтезом. Так, наприклад, екстракція шляхом хімічного очищення порушує

					НУХТ БТЕК 02.02.06 КР ПЗ			
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Зьолко Т.В.</i>			ВСТУП	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Пенчук Ю.М.</i>					6	105
<i>Консульт.</i>						Кафедра БТМ		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

фізико-хімічні властивості хітину, що входить до складу космецевтичних засобів, знижує його молекулярну масу та ступінь ацетилювання, характеризується значними енерговитратами та може призводити до значних вкладень виробництва на переробку відходів. Біологічні методи вилучення хітину за допомогою мікроорганізмів є простішими, більш продуктивними та екологічно чистими порівняно з хімічними (Younes, 2015; Vazquez, 2013; Aranaz, 2018).

Хімічний синтез ретинілпальмітату (альтернатива ретинолу), що широко використовується в лікуванні акне, характеризується низькою або неспецифічною етерифікації, необхідністю багатоетапного очищення та утворенням корозійних сполук під час етерифікації. Мікробний синтез ретинілпальмітату є альтернативою хімічному синтезу через м'якість хімічних реакцій, ефективність та високу селективність (Choi та ін., 2020).

Метою даної роботи є проектування апаратурної та технологічної схем, що окреслюють етапи виробництва та синтезу арбутину шляхом біосинтезу *Xanthomonas maltophilia* ВТ-112 з періодичним додаванням у поживне середовище 164 г/л сахарози, 26 г/л гідрохінону (Liu та ін., 2013).

Актуальність теми полягає у потребі біологічно активних речовин, що використовуються для лікування гіперпігментації - третьої з найпоширеніших проблем шкіри, що викликає значні психосоціальні порушення. Гіперпігментація може бути причиною не тільки надлишкового перебування на сонці, а й наслідком вживання певних лікарських препаратів тощо. Арбутин є одним з активних інгредієнтів космецевтики, що використовується для зменшення пігментоутворення (Sarkar, Arora, & Garg, 2013).

Новизною кваліфікаційної роботи є використання *Xanthomonas maltophilia* ВТ-112, в якості біокатализатора, для біосинтезу арбутину шляхом періодичного бродіння з підживленням, що вважається економічним та ефективним способом. Концентрація арбутину у даному випадку становить 61,7 г/л.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Сутність поняття «космецевтика» та її вплив на шкіру

Косметичний продукт призначений для покращення зовнішнього вигляду, зволоження та очищення шкірного покриву, не впливаючи при цьому на структуру чи функцію шкіри. Протягом останніх років косметична промисловість прагнула створити продукцію, яка проявляла б активну та лікувальну дію для здоров'я шкіри. Дана ціль була досягнута шляхом використання біологічно активних речовин у складі косметичних засобів (Pandey, Jatana, & Sonthalia, 2019).

Вперше термін «космецевтика» був введений американським дерматологом Альбертом Клігманом у 1984 році. Космецевтичний засіб являє собою місцевий препарат, що проявляє одночасно косметичні властивості та високий терапевтичний ефект, здійснюючи прямий вплив на шкіру. Вважається, що поняття «космецевтика» займає середнє положення між косметикою і фармацевтичним засобом.

Незважаючи на широке використання терміну «космецевтика» у науковій, фармацевтичній та комерційній літературі, він все ще офіційно не визнаний Управлінням з контролю за продуктами й ліками США та Європейським Союзом. Це пов'язано з чітким розмежуванням термінів «косметика» та «ліки» Федеральним законом про харчові продукти, ліки та косметику. Антиперспіранти, шампуні проти лупи та сонцезахисні засоби у США регулюються як ліки, а у Європі - як косметика. Натомість японська влада не визнає певні засоби для шкіри ні як чисті ліки, ні як чисту косметику в традиційному розумінні, а розглядає їх, як суміш обох понять,

					НУХТ БТЕК 02.02.06 КР ПЗ			
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Зьолко Т.В.</i>			РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Пенчук Ю.М.</i>					8	105
<i>Консульт.</i>						Кафедра БТМ		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

дозволяючи косметиці містити фармакологічно активні інгредієнти за умови, що лікувальна дія є м'якою та безпечною. На сьогодні космецевтика є окремим підкласом ліків у США та косметики у Європі та Японії.

Показанням до застосування космецевтичних засобів є: гіперпігментація, постакне та інші зміни кольору шкіри, мімічні зморшки, втрата еластичності та тьмяність шкіри, пошкодження та повільний ріст волосся, шкірні захворювання (акне, розацеа, мелазма) тощо. Космецевтики часто представлені сонцезахисними засобами та антиоксидантами (Pandey, Jatana, & Sonthalia, 2019).

Стрімке зростання ринку косметичної промисловості призвело до використання синтетичних та хімічних сполук для економічної вигоди. Шкідливі компоненти у складі косметики здатні взаємодіяти із шарами шкіри та проявляти токсичний вплив на організм людини. Косметичні засоби можуть містити наступні синтетичні хімічні речовини: ВНА (Бутилгідроксіанізол), ВНТ (Бутилгідрокситолуол), барвники кам'яновугільної смоли, діетаноламін (DEA), дибутилфталат (DBP), парабени, поліетиленгліколь (PEG), силоксан і важкі метали. Дані речовини накопичуються в шарах шкіри та викликають такі дерматологічні захворювання, як: дерматит, шкірні висипи, зміну кольору шкірного покриву, рак тощо. Наявність побічних ефектів від використання косметичних засобів стає серйозною проблемою для охорони здоров'я. Вирішити дане питання можна за допомогою використання біологічно активних речовин з природних ресурсів у косметичних рецептах. Дані компоненти є екологічно чистими, менш токсичними, легкодоступними, економічно вигідними, не є канцерогенними та мають менше побічних ефектів (Kalasariya та ін., 2021).

Активними інгредієнтами космецевтики є фітохімічні речовини, вітаміни, пептиди, ензими, ефірні олії, каротиноїди тощо, які входять до складу лосьйонів, кремів, мазей, сироваток та інших форм засобів, призначених для лікування шкіри. Природні сполуки рослинного, мінерального, морського або тваринного походження, отримані виключно

фізичними, мікробіологічними або ферментативними методами, проявляючи важливі для космецевтичної промисловості антиоксидантні, антивікові, протимікробні, фотопротекторні, зволожуючі та відбілюючі властивості (Pandey, Jatana, & Sonthalia, 2019).

1.2. Механізми дії космецевтики на шкіру та організм в цілому

З віком зовнішній шар шкіри (епідерміс) стає тоншим і природне самовідтворення шкірного покриву людини слабшає. Також спостерігається зменшення кількості меланоцитів, колагену та еластину. Старіюча шкіра стає тоншою, бліднішою з помітними віковими та пігментними плямами. Космецевтика та омолоджуючі процедури дають змогу попередити передчасне старіння та покращити зовнішній вигляд вікової шкіри (Liu, 2022).

Старіння шкіри відбувається під дією внутрішніх (генетика, зміна гормонального фону, природне старіння організму) та зовнішніх механізмів (забруднення навколишнього середовища, вплив ультрафіолетового випромінювання (фотостаріння) та активних форм кисню (АФК) тощо) (Bouzroud та ін., 2023). Серед БАР, що використовуються для покращення стану шкіри є нікотинамід, що являє собою активну форму вітаміну В3. Дана сполука здатна збільшувати шкірний синтез колагену та керамідів, стимулювати диференціацію кератиноцитів, що призводить до зміцнення бар'єрної функції шкіри та покращення її зовнішнього вигляду. Вітамін В3 застосовується у антивікових засобах для поліпшення стану шкіри з гіперпігментацією, зморшками, пожовтінням та віковим зниженням еластичності шкіри (Tran, Townley, Barnes, & Greive, 2014).

Зволоження є важливою складовою частиною догляду за шкірою, що робить її молодшою та здоровою. Відомо, що полісахариди водоростей здатні утримувати вологу і можуть виступати як зволожуючі речовини у космецевтиці. Цікаво зауважити, що полісахариди *Laminaria japonica* мають більшу зволожуючу здатність, ніж всім відома гіалуронова кислота (Jesumani, Du, Aslam, Pei, & Huang, 2019).

Дія ультрафіолетового випромінювання супроводжується утворенням АФК, що призводить до появи тьмяності, зморшок, пігментних плям, темних кіл під очима тощо (Kalasariya та ін., 2021). Механізм дії вільних радикалів полягає в активації розпаду колагену та еластину за рахунок регуляції матричних металопротеїназ. Внаслідок дії АФК в поєднанні з іншими несприятливими факторами зовнішнього та внутрішнього середовища спостерігається запалення та зниження еластичності шарів шкіри (Таофіқ та ін., 2016).

Антиоксиданти – це сполуки, що захищають шкіру від дії несприятливих речовин, запобігаючи пошкодженню активними формами кисню мембранних ліпідів, ДНК і білків (Таофіқ та ін., 2016). Окислення мембранних ліпідів - один із найважливіших факторів зниження молодості шкіри. Антиоксиданти захищають шкіру не тільки від УФ-випромінювання, але й від диму та інших забруднювачів повітря.

Відомо, що мікродорості, такі як *Dunaliella salina* та *Spirulina platensis*, які містять β-каротин, можуть перешкоджати утворенню АФК, тим самим попереджати перекисне окислення ліпідів. БАР бурих водоростей (ламінарин, фукоїдан, альгінат, флоротаніни) та природні пігменти (хлорофіли, каротиноїди та похідні токоферолу (вітамін Е та ізопреноїди)) також проявляють потужні антиоксидантні властивості (Таофіқ, 2016; Alves, 2020).

Ультрафіолетове випромінювання стимулює вироблення меланіну (природний пігмент, що захищає клітини шкіри від дії сонця) меланоцитами. Постійний вплив УФ-випромінювання призводить до надлишкового утворення меланіну, що може проявлятися не тільки у вигляді засмаги, але й гіперпігментації шкірного покриву. Засоби для відбілювання шкіри використовують для освітлення кольору шкіри та лікування гіперпігментних розладів. Нерівномірна пігментація шкіри призводить до появи плям від коричневого до сірого кольору або веснянок. Освітлення пігментних плям здійснюється за рахунок використання речовин, що пригнічують тирозиназу

- фермент, що активує синтез меланіну (Thiyagarasaiyar, Goh, Jeon, & Yow, 2020). Відбілювання шкіри передбачає використання натуральних або синтетичних речовин, які забезпечують освітлюючу дію шляхом зменшення концентрації меланіну в шкірі. Природні сполуки: гідрохінон, арбутин, койєва кислота, азелаїнова кислота, вітамін С використовуються як інгібітори тирозинази для відбілювання шкіри (Corinaldesi, 2017; Peyrat, 2019).

Крім того, УФ-випромінювання може бути одним із факторів, що викликає меланому, тобто рак шкіри. Використання сонцезахисного крему є ефективним методом профілактики даного захворювання (Thiyagarasaiyar, Goh, Jeon, & Yow, 2020). Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) виявила, що кожен п'ятий американець хворіє на рак шкіри. У 2020 році Європейський Союз заявив, що 4% усіх нових діагнозів раку відповідають меланомі шкіри. Кількість хворих на дану хворобу збільшується кожні 10 років. Отже, спостерігається зростаючий попит на сонцезахисні продукти. Природні та екологічно чисті речовини широко використовуються при розробці даного продукту та користуються попитом споживачів. Не тільки людині потрібні речовини для захисту від сонця, але й іншим живим організмам також. Фотопротекторну дію у вищих рослинах виконують фенілпропаноїди та флавоноїди, у тварин, грибів і мікроорганізмів - меланін, у грибів, водоростей і тварин - мікоспориноподібні амінокислоти (МАК). Відомо, що мікоспориноподібні амінокислоти захищають від пошкодження клітини та ДНК, пригнічують утворення димеру тиміну під дією УФ-випромінювання, збільшують кількість клітин фібробластів шкіри людини. Тобто, можна вважати, що МАК - це чудова альтернатива хімічних фотопротекторів у сонцезахисних кремах (Santiesteban-Romero, Martinez-Ruiz, Sosa-Hernandez, Parra-Saldivar, & Iqbal, 2022).

Важливою особливістю БАР у космецевтиці є їх здатність проявляти антимікробні властивості. Щоб знизити ризики мікробного зараження косметичного продукту до його складу додають консерванти. Втім синтетичні консерванти можуть викликати побічні дії у споживачів у вигляді

алергічної реакції. Використання природних речовин з антимікробною властивістю є перевагою для косметиків. Полісахариди водоростей здатні зв'язуватись з бактеріальною клітинною стінкою, цитоплазматичною мембраною (ЦПМ) та ДНК, що підвищує проникність ЦПМ та супроводжується вилученням білка з бактеріальної клітини, що робить її нежиттєздатною. Саргафуран, отриманий із бурі водорості *Sargassum maseoagrum*, проявляє антибактеріальну активність проти *Propionibacterium acnes*, що спричиняє розвиток акне (Thiyagarasaiyar, Goh, Jeon, & Yow, 2020). Даний розлад шкіри характеризується запаленням сальних залоз. Причинами акне можуть бути зміни у гормональних, мікробіологічних та імунологічних процесах, наприклад, стимуляція активності сальних залоз андрогенами, фолікулярна гіперкератинізація або запалення. Бактерії *Propionibacterium acnes* та *Staphylococcus epidermidis* є збудниками акне, які стимулюють вироблення прозапальних цитокінів і викликають вивільнення АФК. Отже, пригнічення активності збудників даного шкірного захворювання є стратегічним методом лікування акне в косметичній промисловості (Alves, Sousa, Kijjoa, & Pinto, 2020).

Наступною антимікробною речовиною природного походження є хітозан, який діє на бактерії, віруси і гриби. В порівнянні з іншими дезінфікуючими засобами, хітозан має більшу антимікробну активність, ширший спектр дії та меншу токсичність для людини. Відомо, що хітозан з низькою молекулярною масою може проникати через клітинні стінки бактерій з наступним бокуванням транскрипції ДНК. Високомолекулярний хітозан може взаємодіяти з поверхнею бактеріальної клітин, змінюючи її проникність, та перешкоджати транспорту основних розчинених речовин у клітину (Corinaldesi, Barone, Marcellini, Dell'Anno, & Danovaro, 2017).

Хітозан входить до складу зубних паст, ополіскувачів та інших засобів для порушення утворення біоплівки у ротовій порожнині та зменшення колоній *Streptococcus mutans*, що пов'язані з розвитком карієсу. Було виявлено, що щоденне використання ополіскувачів з хітозаном

супроводжується зменшенням утворення зубного нальоту та кількості бактерій у слині. Крім того, хітозан та його похідні часто входять до складу шампунів і лаків для волосся через його плівкоутворювальну дію і зволожуючі властивості. Механізм дії даної БАР полягає у взаємодії з кератином та утворенні при цьому прозорих, еластичних плівок на волокнах волосся, що запобігають його пошкодженню та збільшують міцність (Aranaz, 2018).

У складі косметичних засобів в якості поверхнево-активних речовин часто використовують біосурфактанти такі, як: рамноліпідим та гліколіпідим. Рамноліпідим являють собою кристалічні кислоти, які складаються з β - гідроксигірної кислоти, приєднаної карбоксильним кінцем до молекули цукру рамнози. Головним продуцентом рамноліпідим є *Pseudomonas aeruginosa*. Дані речовини також використовуються у фармацевтичній промисловості, проявляючи протівірусні, антимікробні та ранозагоювальні властивості.

Гліколіпідим поділяються на софороліпідим, що в основному продукуються дріжджами роду *Candida*, та трегалоліпідим, продуцентами яких є *Rhodococcus* sp., *Mycobacterium* sp., *Nocardia* sp. і *Corynebacterium* sp. Біосурфактанти проявляють кращу сумісність, меншу токсичність та вищу здатність до біодеградації в порівнянні з хімічними поверхнево-активними речовинами (Peurat, 2019).

Отже, БАР проявляють ряд властивостей, що дають змогу застосовувати їх у складі косметичних засобів. Найчастіше дані речовини використовуються як інгібітори тирозинази, антиоксиданти, зволожуючі засоби тощо.

1.3. Характеристика речовин, що можуть використовуватись у косметичній

Існує велика кількість груп БАР з різних природних джерел, що використовуються в якості активних компонентів косметичної продукції, що впливають на стан та здоров'я шкіри. Детально розглянемо найпоширеніші з

них.

α -Гідроксикислоти (АНА) представлені гліколевою, молочною, яблучною, лимонною, винною кислотами та входять до складу косметичних пілінгів завдяки своїм гігроскопічним, емульгуючим, регенеруючим і відлущуючим властивостям. АНА-кислоти складаються з вуглецевих ланцюгів, що містять карбоксильну та гідроксильну групи. АНА-кислоти застосовуються для лікування акне, гіперпігментації, пігментних плям, себореї та мелазми. Дані речовини здатні покращити стан зморшкуватої шкіри за рахунок збільшення синтезу глікозаміногліканів, потовщення шкіри та оновлення її клітин. При використанні даних активних речовин слід пам'ятати про їх кислотність і здатність швидко проникати в глибокий епідерміс, викликаючи подразнюючу дію при концентраціях вище 10%. Крім того, дослідження вчених довели, що пілінг з використанням α -гідроксикислот підвищує чутливість шкіри до ультрафіолетового світла і тому при поєднанні цих двох факторів може спостерігатися пошкодження шкіри. Після проведення пілінгу не рекомендується перебувати на сонці тривалий час та обов'язково користуватися сонцезахисними засобами (Antonopoulou, 2016; Tang, 2018).

Гліколева кислота є найпоширенішою серед АНА-кислот. Її функції полягають у здатності до розгладжування грубої та нерівної текстури шкіри, мімічних зморшок, нормалізації тону шкіри та зменшення її гіперпігментації. Активність гліколевої кислоти залежить від її концентрації та рН. Найчастіше значення водневого показника для даною БАР у космецевтиці для домашнього догляду становить 4. Для відлущування шкіри використовується гліколева кислота у високих концентраціях і з низьким рН. Глибокий хімічний пілінг з концентрацією гліколевої кислоти 70% та рН від 0,08 до 2,75 застосовується тільки у косметологічних кабінетах (Narda, 2021).

Із статистичних даних відомо, що розмір ринку гліколевої кислоти у 2015 році оцінювався у 159,6 мільйонів доларів США, а вже до 2024 року

очікується збільшення ринку до 415,0 мільйонів доларів США (Salusjarvi, Navukainen, Koivistoinen, & Toivari, 2019).

Серед інгібіторів тирозинази в якості відбілюючих компонентів косметики виділяють наступні: гідрохінон, арбутин, алоезин, еллагова кислота, аскорбінова кислота, койєва кислота, азелаїнова та ферулова кислоти тощо.

Гідрохінон являє собою фенольну сполуку з двома ОН-групами в параположеннях бензольного кільця, що має здатність до відбілювання шкіри в концентраціях менше 1 %. Механізм дії даної БАР полягає у оборотному інгібуванні тирозинази. Деякі країни не використовують гідрохінон у виробництві косметики через його побічні дії, такі як канцерогенез, тривала депігментація, подразненням шкіри та дерматит. Контроль концентрації гідрохінону знижує ризик появи небажаних побічних дій (Antonopoulou, 2016; Liu, 2022).

Арбутин являє собою сполуку, яка складається з молекули D-глюкози, зв'язаної з молекулою гідрохінону. За структурою арбутин подібний до L-тироzinу і тому механізм його дії полягає у конкурентному зв'язуванні з активним центром тирозинази, пригнічуючи її. Тобто, арбутин не блокує сам синтез тирозинази, а пригнічує каталітичну активність вже наявної тирозинази, запобігаючи при цьому утворенню меланіну. Відомо, що арбутин також може поглинати АФК, такі як гідроксильні радикали, і активувати антиоксидантну відповідь клітин. Дослідження вчених показали, що поєднання L-аскорбінової кислоти та арбутину у складі косметиків призвело до посилення інгібіторної дії на тирозиназу (Liu, 2022).

Койєва кислота - водорозчинний вторинний метаболіт, здатний вироблятися грибами родів *Aspergillus* і *Penicillium*. Дана БАР проявляє антиоксидантні, антимікробні та протизапальні властивості, запобігає фотопшкодженням, гіперпігментації та утворенню зморшок шкіри. Койєва кислота пригнічує дію тирозинази шляхом захоплення іонів міді в активному центрі даного ферменту, тим самим запобігаючи синтезу меланіну. Дана БАР

може викликати подразнення у високих дозах, тому концентрація койєвої кислоти у засобах для місцевого застосування має бути в межах на від 1 до 4% (Antonopoulou, 2016; Liu, 2022).

Вітамін С є потужним водорозчинним природним антиоксидантом, який входить до складу косметики як консервант, регулятор рН та активна речовина. Численні дослідження показали, що аскорбати здатні активувати синтез колагену у фібробластах шкіри людини *in vitro*, проявляти фотозахисну активність проти UVA та UVB опромінення та ранозагоювальні властивості (Antonopoulou, 2016). Аскорбінова кислота бере участь у дозріванні колагену на посттрансляційній стадії та стимулює транскрипцію генів проколагену I і III у клітинах. Кількість та структура колагену залежить від вмісту вітаміну С в клітинах шкірного покриву. Тобто, дефіцит аскорбінової кислоти може призвести до передчасного старіння шкіри. Проводилися клінічні дослідження з використанням 5% крему аскорбінової кислоти, що застосовувався двічі на день протягом 2 тижнів на поверхні передпліччя дев'ятнадцяти добровольців. Також визначався рівень проколагену I у біопсії шкіри. Аналіз шкіри усіх суб'єктів після дослідження не показав змін у показниках проколагену порівняно з базовим рівнем до лікування. Тоді вчені розділили добровольців на дві групи: ті, що мали низький вихідний рівень проколагену I і група з високими показниками вихідного рівня проколагену I. Дослідження провели знову і виявили, що у суб'єктів першої групи спостерігалось значне підвищення рівня проколагену I. Тоді вчені зробили висновок, що використання засобів з аскорбіновою кислотою сприяє утворенню колагену у шкірі з його дефіцитом (Воо, 2022).

L-аскорбінова кислота є найбільш біологічно активною формою вітаміну С. Недоліком даної речовини є її нестабільність та гідрофобність, тому L-аскорбінова не здатна проникати через гідрофобний роговий шар шкіри. Для вирішення даної проблеми, виробники космецевтики використовують L-аскорбінову кислоту з рН нижче 3,53. Зниження кислотності вітаміну С сприяє його проникненню, в основному через

перетворення зарядженої форми молекули в незаряджену (Pandey, Jatana, & Sonthalia, 2019).

Ретиноїди являють собою природні чи синтетичні похідні вітаміну А та входять до складу безрецептурних космецевтичних засобів або рецептурних місцевих ліків. Ретиноева кислота (третиноїн) разом із синтетичними ретиноїдами вищого покоління (адапален, тазаротен і бексаротен) є зареєстрованими рецептурними ліками. Під назвою ретиноїди розуміють ретинілові ефіри, ретинол і ретинальдегід. Ретинол у шкірі окислюється до ретинальдегіду, який у свою чергу перетворюється на ретиноеву кислоту. Дані перетворення відбуваються під дією шкірного ферменту цитохром Р450-залежної RA-4-гідроксилази (СР450-RAH). Порогова концентрація ретиноїдів у космецевтиках становить приблизно 0,025%, у фармацевтичних засобах концентрація буде вищою. Дані компоненти проявляють омолоджуючий ефект на шкіру шляхом її пом'якшення, поступового зниження кількості зморшок та дрібних пігментацій. Ретиноїди здатні пригнічувати тирозиназу, перешкоджати перенесенню меланіну до кератиноцитів та стимулювати оновлення епідермісу. Пряма дія на клітини шкірного покриву може супроводжуватися еритемою та лущенням, а іноді й небажаною гіперпігментацією шкіри. Третиноїн широко застосовується у складі відбілюючих кремів. Ретинальдегід у концентрації 0,05% є активним компонентом омолоджуючих процедур, що передбачають зменшення зморшок. Дана БАР добре переноситься та викликає менше подразнення шкіри в порівнянні з ретиноевою кислотою (Pandey, 2019; Liu, 2022).

Наступними активними косметичними речовинами є ізофлавіони сої, що усувають старіння шкіри за допомогою антиоксидантних механізмів, стимулюють синтез нового колагену та посилюють зволоження шкіри шляхом затримки вологи в клітинах. В організмі людини ізофлавіони сої метаболізуються в геністеїн і дайдзеїн, які є фітоестрогенами (сполуки рослинного походження зі слабким проестрогенним ефектом). Дефіцит

колагену та зниження пружності шкіри у період постменопаузи пов'язаний із зменшенням синтезу естрогену. Тому космецевтика з БАР сої широко використовується у жінок постменопаузного віку для уповільнення втрати колагену за рахунок естрогенної стимуляції (Pandey, Jatana, & Sonthalia, 2019).

Серед поширених БАР, що покращують стан шкіри є глутатіон - низькомолекулярний, водорозчинний тіолтрипептид, що складається із залишків глутамату, цистеїну і гліцину. Дана сполука має біологічно активну сульфгідрильну групу, до складу якої входить активний фрагмент цистеїну і визначає реакційну здатність молекули. Глутатіон входить до складу тканин ссавців та бере участь у підтримці внутрішньоклітинного окисно-відновного балансу, що робить його активним антиоксидантом в людському тілі. Наукові дослідження в різних спеціальностях свідчать про те, що деякі захворювання людини (емфізема, астма, алергічні та метаболічні розлади, рак, синдром імунодефіциту тощо) пов'язані з низьким рівнем глутатіону (Sonthalia, Daulatabad, & Sarkar, 2016).

Глутатіон здатний освітлювати шкіру. Механізм гіпопігментної дії даної сполуки проявлявся в три способи. Перший спосіб інгібування тирозинази здійснювався за рахунок зв'язування мідного сайту тирозинази з тіоловою групою глутатіону. Також глутатіон має здатність перешкоджати клітинному переносу тирозинази до премеланосом, що є необхідною умовою для синтезу меланіну. І третій шлях інгібування тирозинази характеризується здатністю глутатіону порушувати процеси меланогенезу. Для освітлення шкіри застосовують місцеві засоби з глутатіоном (креми, засоби для вмивання обличчя), пероральні препарати (капсули та сублінгвальні таблетки) та внутрішньовенні ін'єкції (Sonthalia, Daulatabad, & Sarkar, 2016).

Гіалуронова кислота (ГК) – відома сполука косметичної промисловості, яка є полісахаридом, що належить до групи глікозаміногліканів і складається з дисахаридних одиниць, які представлені N-ацетилглюкозаміном та D-глюкуроновою кислотою. ГК входить до складу людських тканин та відіграє

важливу роль у підтримці тканинного гомеостазу. Біологічна функція даної речовини у міжклітинному матриксі визначається її здатністю зміцнювати міжклітинні структури і створювати еластично-в'язку рідку матрицю, яка оточує колагенові та еластинові волокна. Відомо, що з віком кількість ГК в шкірі зменшується, що супроводжується зневодненням, втратою еластичності шкіри та появою зморшок (de Oliveira, 2016; Juncan, 2021). Молекулярна маса ГК впливає на її активність. Розрізняють високомолекулярну, що погано проникає через шкіру і залишається на її поверхні, утворюючи захисний шар, та низькомолекулярну гіалуронову кислоту, яка здатна проникати через роговий шар, епідерміс, досягаючи глибших шарів шкіри (Bravo, Correia, Gonçalves Junior, Sant'Anna, & Kerob, 2022).

У космецевтиці ГК використовується для зволоження та омолодження шкіри, роблячи її більш гладкою. Крім того, дана речовина використовується в косметології для доставки активних інгредієнтів через роговий шар та утримання їй в ньому. ГК також проявляє гідратаційну дію та має здатність зв'язувати воду до 1000 разів більше свого об'єму. Перевагами гіалуронової кислоти, що роблять її поширеною БАР для космецевтики, є її висока гігроскопічність та біосумісність, в'язкопружна структура, неімуногенність і здатність не утворювати токсичні продукти при розпаді (de Oliveira, 2016; Juncan, 2021).

Отже, розглянуті сполуки є поширеними компонентами космецевтичної галузі, що проявляють ряд переваг та активних властивостей у місцевих косметичних композиціях. Дані продукти можуть не тільки покращують зовнішній вигляд шкіри, але й використовуються для запобігання та/або лікування вікових або функціональних захворювань шкіри. Природні та безпечні БАР мають великий потенціал для використання в косметиці та космецевтичних засобах (Peyrat, 2019).

1.4. Характеристика форм випуску космецевтики

Космецевтика може відпускатися через аптечну мережу або за рекомендаціями косметолога. Лікувальна косметика складає 1/3 фармацевтичних препаратів аптечного асортименту. Дані засоби представлені у вигляді шампунів, гелів, кремів, зубних паст, олій, бальзамів тощо (Дедишина Л., 2015). Якщо говорити про космецевтику, яка продається в інтернет-магазинах, то її форма випуску також може бути представлена сироватками, лосьйонами, тонуючими засобами, масками для обличчя тощо.

Таблиця 1.1

Приклади космецевтичної продукції на ринку України

БАР	Приклад космецевтики, де є дана БАР	Призначення засобу	Ціна	Джерело *
<i>Вітамін С, вітамін Е</i>	С-TETRA <i>Medik8</i> – антиоксидантна сироватка з вітамінами С та Е, 30 мл.	Освітлення і вирівнювання тону шкіри, боротьба з вільними радикалами, зменшення видимих ознак старіння.	2 132 грн.	1
<i>Гіалуронова кислота 5%</i>	Маска для інтенсивного зволоження <i>iS CLINICAL</i> Hydra-Intensive Cooling Masque, 120 г.	Глибоке зволоження, знаття запалення шкіри, захист від вільних радикалів. Застосовується при акне, сонячних опіках, зневодненні шкіри обличчя.	3 699 грн.	2
<i>Альфа-арбутин 5% + койєва кислота 2%</i>	Освітлюючий гель для обличчя <i>Phyto Plus</i> Gel, 15 мл.	Усунення наявних пігментних плям та гіперпігментації, розгладження зморшок.	2 940 грн.	3
<i>Саліцилова кислота 5% + гліколева кислота 5%</i>	NORMADERM СИРОВАТКА-ПІЛІНГ <i>VICHY</i> , 30 мл.	Зменшення постакне, мінімізація чорних точок та розширених пор.	1 079.31 грн.	4

Ретинол 0,35%	Крем для обличчя з ретинолом Retinol SRX <i>RejudiCare</i> , 30 мл.	Омолодження шкіри, зменшення кількості зморшок, захист клітин шкіри від впливу вільних радикалів, вирівнювання та покращення тону шкіри.	3 280 грн.	5
------------------	---	--	------------	---

Примітка. * Ціни наведено станом на квітень 2023 р.

1- <https://medik8.com.ua/uk/catalog/skin-ageing/c-tetra/>,

2 - [https://voosa.ua/woman/proff-cosmetics/is-clinical/hydra-intensive-cooling-](https://voosa.ua/woman/proff-cosmetics/is-clinical/hydra-intensive-cooling-masque/?gclid=CjwKCAjwuqiiBhBtEiwATgvixOZ0mmR6kIGPyubvGm9U_yEoJ)

[masque/?gclid=CjwKCAjwuqiiBhBtEiwATgvixOZ0mmR6kIGPyubvGm9U_yEoJ](https://voosa.ua/woman/proff-cosmetics/is-clinical/hydra-intensive-cooling-masque/?gclid=CjwKCAjwuqiiBhBtEiwATgvixOZ0mmR6kIGPyubvGm9U_yEoJ)
[uNVzacs48DGIUNbs96n-cH6vUMAKhoCpQsQAvD_BwE](https://voosa.ua/woman/proff-cosmetics/is-clinical/hydra-intensive-cooling-masque/?gclid=CjwKCAjwuqiiBhBtEiwATgvixOZ0mmR6kIGPyubvGm9U_yEoJ),

3 - <https://luxmarafet.com/ua/phyto-c-phyto-plus-gel/>,

4 - <https://apteka911.ua/ua/shop/sirovatka-piling-dlya-oblichchya-vichy-vishi-normaderm-probio-dlya-korektsiyi-nedostatkiv-zhirnoyi-ta-problemnoyi-shkiri-z-beta-gidroksikislotami-30-ml-p244213>,

5 - <https://rejudicare.com.ua/uk/product/rejudicare-retinol-srx-krem-dlya-oblichchya-z-retinolom/> .

Крім звичних форм випуску косметичної продукції є і новітні. Вчені розробили швидкорозчинні мікроголкові пластирі з глутатіоном для відбілювання шкіри. Застосування даної форми засобу передбачає покращення проникності та маскування неприємного запаху даної БАР. До складу матеріалів мікроголкових пластирів входить гіалуронова кислота за рахунок високої біосумісності, регульованих фізико-хімічних властивостей та антиоксидантної властивості. Дослідження вчених показали, що глутатіон у концентрації 1 мг/мл є безпечним та ефективним для відбілювання шкіри в складі мікроголкових пластирів (Lee, 2020).

Нанотехнології широко застосовуються у космецевтиці. Основними перевагами використання наночастинок у космецевтичних рецептурах є їх здатність покращувати стабільність косметичних інгредієнтів (вітамінів, ненасичених жирних кислот, антиоксидантів тощо) шляхом інкапсуляції всередині наночастинок, захищати шкіру від ультрафіолету, доставляти активні інгредієнти в потрібне місце та контролювати їх вивільнення.

Використання менших за розміром частинок активного мінералу дає можливість не залишати помітний білий відтінок на шкірі після використання сонцезахисного крему.

БАР можуть включатися в склад наноемульсій, нанокапсул, нанопігментів (здатні підвищувати ефективність сонцезахисних продуктів), ліпосомні формули (здатні захищати активні речовини від кисню та світла), ніосоми, нанокристали тощо. Включення вітамінів А, Е, К, каротиноїдів, коензиму Q10 у ліпосоми сприяє підвищенню їхньої фізичної та хімічної стабільності при диспергуванні у воді. Компанія L'Oreal широко застосовує нанотехнології у виробництві своїх продуктів. Наприклад, крем даної компанії проти зморшок Revitalift містить наносоми про-ретинолу А і стверджується, що даний засіб відновлює шкіру та зменшує появу зморшок.

Механізм дії звичайних засобів для вирівнювання волосся полягає в руйнуванні зовнішньої структури кутикули для проникнення всередину волосся. Натомість наночастинки серицину у складі наноемульсій для волосся легко прилипають до його поверхні та лікують пошкоджені кутикули (Lohani, Verma, Joshi, Yadav, & Karki, 2014).

1.5. Одержання космецевтики мікробним синтезом

Каротиноїди - природні пігменти, що проявляють значні антиоксидантні, протизапальні, сонцезахисні властивості шляхом пригнічення несприятливих процесів, спричинених УФ-випромінюванням (Corinaldesi, Barone, Marcellini, Dell'Anno, & Danovaro, 2017).

Каротиноїди, що використовуються для потреб промисловості, отримують екстракцією з овочів, хімічним та мікробним синтезом. Проте виробництво пігментів з джерел рослинного походження характеризується проблемами щодо сезонної та географічної мінливості, які неможливо контролювати. Хімічний синтез призводить до утворення небезпечних відходів, які впливати на навколишнє середовище. Натомість мікробне виробництво каротиноїдів вважається ефективним, безпечним та дає змогу знизити витрати виробництва за рахунок використання вдосконалених

штамів і недорогих (часто відходів) джерел вуглецю та азоту в культуральних середовищах (Mata-Gomez, 2014; Kot, 2016).

β -каротин може синтезуватися дріжджами роду *Rhodotorula*, особливо такими видами, як *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula minuta*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Rhodotorula acheniorum* і *Rhodotorula graminis*. Також дріжджі *Sporobolomyces roseus*, *Sporobolomyces salmonicolor* і *Sporobolomyces patagonicus* є відомими продуцентами каротиноїдів, що найбільш вивчені. Крім β -каротину широко використовується у промисловості астаксантин, що в основному виробляється дріжджами *Xanthophyllomyces dendrorhous* (Mata-Gomez, Montanez, Mendez-Zavala, & Aguilar, 2014).

Вихід каротиноїдів залежить від певних факторів навколишнього середовища. Відомо, що надлишок світла здатний стимулювати біосинтез каротиноїдів. Це пов'язується із вищою активністю ферментів, які беруть участь у біосинтезі. Zhang та ін. проводили дослідження на культурі *R. glutinis*, яку піддавали освітленню світлодіодними лампами. Було виявлено, що максимальна продуктивність каротиноїдів (2,6 мг/л) спостерігалася під час освітлення культури трьома лампами, в той час як вихід каротиноїдів при контрольованих умовах становив 1,2 мг/л (Kot, Błażej, Kurcz, Gientka, & Kieliszek, 2016).

Температура по-різному впливає на окремі види каротиноїдів. Спостерігається збільшення синтезу β -каротину *R. glutinis* при нижчій температурі, тоді як виробництво торулену та торуларродину посилюється з підвищенням температурних показників. Зважаючи на те, що *R. glutinis* є аеробним мікроорганізмом, забезпечення правильної аерації є необхідною умовою для нормального біосинтезу каротиноїдів. Вчені виявили, що оптимальні показники швидкості змішування культури *R. glutinis* має становити від 180 до 190 об/хв, а потік повітря має коливатися від 0,5 до 1,9 л/л. хв. (Kot, Błażej, Kurcz, Gientka, & Kieliszek, 2016).

Виявлено, що наявність іонів металів, розчинників і хімічних сполук у культуральному середовищі також впливає на виробництво каротиноїдів. Так

Saenge та ін. виявили, що присутність Tween20 у середовищі призводить до підвищення продуктивності каротиноїдів (108,94 мг/л) порівняно з контрольною культурою (65,86 мг/л) (Kot, Włazejak, Kurcz, Gientka, & Kieliszek, 2016).

Існують різноманітні джерела вуглецю для культивування дріжджів. Побічні продукти промисловості такі, як виноградне сушло, екстракт торфу та гідролізат торфу, сік цукрової тростини, патока цукрової тростини та цукрових буряків, кукурудзяний сироп, гідролізат кукурудзи, молочна сироватка є альтернативою високовартісним джерелам вуглецю (Mata-Gomez, Montanez, Mendez-Zavala, & Aguilar, 2014).

Для покращення виробництва каротиноїдів використовують методи метаболічної інженерії. Вибір відповідного мікроорганізму є першим кроком у біотехнологічних процесах. Відомо про введення дріжджам *Sacharomyces cerevisiae* і *Candida utilis* каротиногенних генів з *Erwinia uredovora*, *Agrobacterium aurantiacum*, *Xanthophyllomyces dendrorhus* (фітоенсинтазу (crtYB) і фіотендесатуразу (crtI)) для виробництва каротиноїдів: β -каротину, лікопіну та астаксантину (Mata-Gomez, Montanez, Mendez-Zavala, & Aguilar, 2014).

Меланін - це природний пігмент, що проявляє ряд важливих властивостей та використовується в фармацевтиці та косметиці, входячи до складу сонцезахисних кремів. Відомо, що штам *Streptomyces glaucescens* NEAE-N здатний продукувати значну кількість даного пігменту на оптимізованому середовищі з пептону з дріжджовим екстрактом. Меланін здатні продукувати *Pseudomonas stutzeri*, *Brevundimonas sp.*, *Aspergillus fumigatus*, *Bacillus safensis*, *Streptomyces lusitanus*, *Streptomyces kathirae* тощо. Дана БАР входить до складу клітинної стінки грибів або локалізується у фібрилах зовнішнього шару. Крім природного синтезу меланіну використовують методи генної інженерії. Наприклад, використовують *E. coli* з наступною експресією генів з *Streptomyces antibioticus* (Martinez, 2019; El-Naggar, 2022).

Синтез меланіну бактеріями роду *Streptomyces* пов'язаний із їх адаптацією до посилення стресових умов навколишнього середовища (світло, температура, окислювальний стрес, висока концентрація важких металів). Даний пігмент здатний проявляти антибіотичну, протипухлинну, антиоксидантну та антимікробну властивості (Wibowo та ін., 2022).

1.6. Одержання космецевтики ферментативним шляхом

Гіалуронова кислота - важливий косметичний інгредієнт, що здатний вироблятися у промислових умовах шляхом екстракції з тваринних тканин, мікробною продукцією або великомасштабною бактеріальною ферментацією з використанням генетично модифікованих штамів. Синтез ГК тваринного походження має певні нюанси. Процеси екстракції завжди проводяться при суворих умовах, таких як подрібнення, обробка кислотою та повторна екстракція органічними розчинниками. Даний метод отримання БАР впливає на розміри ГК від яких залежить її дія. Крім того, ГК тваринного походження може зв'язуватися з клітинними білками, що є небажаним, оскільки існує ймовірність того, що вони спричиняють імунну відповідь при використанні готового продукту. Виділення ГК із тканин тварин є високовартісним, трудомістким та довготривалим процесом. Тому біотехнологічне виробництво ГК розглядається як кращий спосіб виробництва даної БАР (Sze, Brownlie, & Love, 2016).

У порівнянні з іншими глюкозаміногліканами, що синтезуються в апараті Гольджі, ГК полімеризується на плазматичній мембрані ферментами, а саме гіалуронансинтазами (НА-синтазами або HAS). Дані ферменти розпізнають два різних попередника UDP-цукрів і каталізують два глікозидні зв'язки на зростаючому ланцюзі ГК (Саоп та ін., 2021).

Біосинтез ГК починається з перетворення глюкози на глюкозу-6-фосфат за допомогою ферменту гексокінази, що фосфорилує глюкозу. Далі утворюється глюкуронова кислота та N-ацетилглюкозамін. Глюкуронова кислота бере участь у біосинтезі ГК наступним чином: глюкоза-6-фосфат перетворюється в глюкозу-1-фосфат за участю ферменту фосфоглюкомутази.

Фермент UDP -глюкозопірофосфорилаза (*hasC*) трансформує глюкозу-1-фосфат на UDP-глюкозу. Тоді утворена речовина окислюється і утворюється UDP-глюкуронова кислота (перший попередник ГК) через фермент UDP-глюкозодегідрогеназу (*hasB*). N-ацетилглюкозамін бере участь у біосинтезі ГК шляхом перетворення глюкози-6-фосфату у фруктозу-6-фосфат за допомогою ферменту фосфоглюкоізомерази (*hasE*). У наступних перетвореннях беруть участь такі ферменти, як амідотрансферази (*glmS*), мутази (*glmM*), ацетилтрансферази та пірофосфорилази. Кінцевим результатом даних перетворень є утворення другого попередника ГК - UDP-N-ацетилглюкозаміну. Потім фермент гіалуронова синтаза (*hasA*) починає полімеризувати два попередники ГК з утворенням полімеру гіалуронової кислоти (Ucm та ін., 2022).

Гіалуронансинтази (HAS) існують двох видів: класу I, коротші за 280 амінокислот, і класу II, довші за 280 амінокислот. HAS I присутні в деяких видах *Streptococcus* , вірусах і хребетних, натомість HAS II містить тільки *Pasteurella multocida*. HAS класу II відрізняється від HAS класу I конформацією білка, який бере участь у з'єднанні плазматичної мембрани, що також певним чином впливає на механізм дії синтезу ГК. Ферменти класу I містять кілька трансмембранних доменів, в той час як HAS класу II приєднуються до плазматичної мембрани через один домен поблизу карбоксильного кінця. Також дані класи ферментів відрізняються методом виробництва ГК. Ферменти класу I додають два попередники цукру, тобто глюкуронову кислоту і N -ацетилглюкозамін, на відновлювальному кінці, а HAS класу II розширюють полісахаридний ланцюг на нередуційному кінці (de Oliveira, 2016; Shikina, 2022).

Виробництво гіалуронової кислоти стикається з певними проблемами, а саме: обмежене виробництво даної БАР через високу в'язкість бульйону, що призводить до труднощів у змішуванні та швидкості масообміну кисню; накопичення молочної кислоти, що є основним побічним продуктом ферментації ГК, здатний спричинити пригнічення росту клітин і вироблення

гіалуронової кислоти (Serra, Casas, Toubarro, Barros, & Teixeira, 2023).

Бактерії, такі як *Pasteurella multocida* та *Streptococcus* групи А та С, є природними продуцентами ГК, що здатні утворювати ланцюги даного полімеру. Серед еукаріотичних мікроорганізмів, що також здатні виробляти певну кількість ГК, виділяють дріжджі *Cryptococcus neoformans* і зелені водорості *Chlorella sp.* Цікаво зауважити, що синтез гіалуронової кислоти клітинами мікроводоростей *Chlorella* спостерігається при її інфікуванні вірусом *Paramecium bursaria chlorella*. Дослідження вчених показали, що приблизно 80 % даних мікроводоростей виробляють ГК під час інфекції. Концентрація ГК під час такого синтезу не перевищує 1 г/л (de Oliveira та ін., 2016).

Streptococcus zooepidemicus здатний виробляти високомолекулярну ГК з високою біосумісністю. Проте, *Streptococcus* характеризується повільним ростом, необхідністю використання дорогих середовищ і подальшої обробки продукту внаслідок його патогенності та наявності ендотоксинів (Serra, Casas, Toubarro, Barros, & Teixeira, 2023).

Умови культивування продуцентів відіграють важливе значення для виробництва гіалуронової кислоти. Наприклад, *Streptococcus zooepidemicus* потребує поживних речовин необхідних для нормального росту, особливо джерела азоту. Дана бактерія не синтезує певні амінокислоти, що сприяють росту та вироблення гіалуронової кислоти. Тому, в культуральне середовище слід додати амінокислоти для кращого результату виробництва (Serra, Casas, Toubarro, Barros, & Teixeira, 2023).

Відомо, що додавання $MgCl_2$ до культурального середовища рекомбінантних організмів, в яких рід *Streptococcus* відповідає за експресію генів, призводить до збільшення виходу ГК. Це може бути пов'язано зі здатністю двовалентного іона утворювати комплекс з цукровим нуклеотидом, що підвищує активність глікозилтрансфераз. Навпаки присутність іонів Na^+ у середовищі культивування призводить до значного зменшення концентрації утвореної ГК. Це пов'язано зі здатністю

одновалентних іонів блокувати гіалуронансинтазу, тим самим знижуючи вихід реакції (Shikina, Kovalevsky, Shirkovskaya, & Toukach, 2022).

У 2018 році Liu та ін. проводили двостадійну ферментацію *Streptococcus zooepidemicus* HA-13-06 тривалістю 24 год. Після проведення дослідження, вчені виявили, що аерація та перемішування культурального середовища відіграють важливу роль у кінцевому синтезі ГК. Відомо, що аеробні умови посилюють поглинання глюкози, сприяючи при цьому синтезу ГК з більшою молекулярною масою. Часте та помірне перемішування 600 нм призвело до покращення виходу ГК. За даних умов Liu та ін. отримали вихід 4,75 г/л ГК з молекулярною масою 2360 кДа. Armstrong та ін. довели важливість значень рН і температури під час процесів бродіння та отримання ГК. Для ферментації партії *S. zooepidemicus* використовували різні умови температури та рН. Дослідження проводились при рН в діапазоні від 6,3 до 8,0 та при температурі від 32 до 40 °С. Після даних експериментів було встановлено оптимальне значення для росту біомаси, яке становило 6,7. Оптимальна температура росту в даному випадку становила 40 °С. Тому вчені зробили висновок, що рН, аерація, температура та параметри перемішування повинні контролюватися для отримання найкращих результатів синтезу (Rodriguez-Marquez, Arteaga-Marin, Rivas-Sanchez, Autrique-Hernandez, & Castro-Munoz, 2022).

Методи метаболічної інженерії широко використовуються для синтезу гіалуронової кислоти через можливість отримання продукту, що не містить ендотоксинів, тоді як природні продуценти є переважно патогенними. Генетично модифікованими організмами можуть виступати *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecalis*, *Corynebacterium glutamicum*, *Agrobacterium sp*, *Escherichia coli*, *Streptomyces albulus*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris* тощо. Відбувається реконструкція шляху біосинтезу ГК у вибраному рекомбінованому організмі шляхом експресії генів природних продуцентів, які відповідають за виробництво ферментів для біосинтезу ГК. Експресія генів з родів *Streptococcus*, зокрема *Streptococcus*

zooepidemicus, і *P. multocida* широко використовується на практиці. Використання рекомбінантних організмів для синтезу важливих сполук запобігає забрудненню цільового продукту токсинами, тобто призводить до меншої патогенності кінцевої сировини, що в свою чергу призводить до здешевлення продукту через відсутність потреби в подальшому очищенні (de Oliveira, 2016; Shikina, 2022).

Bacillus subtilis створений для промислового виробництва гіалуронової кислоти з низькою молекулярною масою, що використовується у косметичних рецептурах, наприклад, у складі зволожуючих кремів та сироваток. Перевагою даного мікроорганізму є його швидкий ріст і відносно низькі витрати на його культивування для виробництва ГК. *Bacillus subtilis* здатний продукувати дану БАР за рахунок використання гена *hasA* з *S. equisimilis* у поєднанні з надлишковою експресією одного або більше з трьох природних генів-попередників *B. subtilis* (гомологічних *hasB*, *hasC* і *hasD* у *Streptococci*). *B. subtilis* проявляє високу синтезуючу здатність і продуктивний ріст у промислових ферментерах. Даний мікроорганізм не містить екзотоксинів та ендотоксинів, тому продукти, що виробляються в цьому організмі, вважаються безпечними (Sze, 2016; Serra, 2023).

Escherichia coli не має здатності продукувати гіалуронову кислоту через відсутність ключових ферментів біосинтезуючого шляху. Однак, якщо UDP-глюкозодегідрогеназа з *E. coli* K5 та гіалуронансинтази з *P. multocida* експресуються, то виникає можливість синтезувати ГК у штаммах *E. coli*, таких як JM109. Спостерігалось посилення синтезу даної БАР при додаванні до культурального середовища глюкози та глюкозаміну, що є попередниками ГК. Вихід при даних умовах становив до 3,8 г/л (Sze, Brownlie, & Love, 2016).

Культуральне середовище повинно містити джерела вуглецю (глюкоза, фруктоза, мальтоза тощо) для забезпечення додаткового джерела енергії для мікроорганізмів. Джерела азоту, наприклад, сульфат амонію та дріжджовий екстракт, додають до середовища для забезпечення мікроорганізмів незамінними амінокислотами. Вітаміни сприяють кращому росту

продуцентів. Частіше використовують тіамін, рибофлавін і піридоксин. Важлива наявність факторів росту у культуральному середовищі, таких як дріжджовий екстракт, соєвий пептон і триптон, для забезпечення додаткових поживних речовин та пришвидшення росту мікроорганізму. Правильно підібраний склад культурального середовища призводить до пришвидшення виробництва гіалуронової кислоти (Serra, Casas, Toubarro, Barros, & Teixeira, 2023).

Субстратами, які переважно застосовуються для синтезу гіалуронової кислоти, є глюкоза та сахароза, що слугують основним джерелом вуглецю та енергії, а також дріжджовий екстракт і пептони в якості джерела азоту (Serra, Casas, Toubarro, Barros, & Teixeira, 2023).

Важливою складовою виробництва ГК є встановлення режиму культивування мікроорганізмів, який потрібний для оптимального вирощування та підтримки мікроорганізмів, які використовуються в процесі бродіння. Існують три способи культивування у виробництві ГК. Серійне культивування характеризується вирощуванням культури у закритій посудині протягом певного періоду часу, після чого культуру мікроорганізмів збирають з наступним екстрагуванням гіалуронової кислоти. Даний спосіб культивування вважається простим та легким в установці, але менш ефективний та дорожчий, ніж інші методи. Порційне культивування з підживленням являє собою вирощування продуцентів у закритій посудині з періодичним підживленням певним субстратом або добавкою. Даний метод характеризується більшою концентрацією мікроорганізмів і підвищеною швидкістю виробництва БАР. Дана культура з періодичним підживленням є більш ефективною, в порівнянні з серійною культурою, але складнішою за налаштуванням та контролем. Альтернативою методу серійного виробництва ГК є ферментація з періодичним підживленням, що характеризується скороченням часу бродіння та збільшенням показника кінцевого виходу. Наступним способом - це безперервне культивування, тобто мікроорганізми вирощують у закритій посудині з постійною подачею свіжого середовища.

При безперервному культивуванні спостерігається висока концентрація мікроорганізмів, швидке виробництво ГК, мінімізації відходів та зменшенню молекулярної полідисперсності БАР. Безперервне культивування вважається найефективнішим способом, проте вимагає складного налаштування та контролю (Ucm, 2022; Serra, 2023).

Статистичні дані свідчать, що світовий ринок гіалуронової кислоти до 2027 року зросте на 8,1% порівняно з 2019 роком, тому оптимізація виробництва даної БАР для різних видів промисловості є актуальною (Ucm та ін., 2022).

У таблиці 1.2 представлено порівняння продуцентів гіалуронової кислоти та умов їх культивування. *Corynebacterim glutamicum* ATCC13032 здатний синтезувати ГК з наступним її виходом 8.3 г/л, що перевищує показники інших представлених продуцентів. Тривалість культивування даної культури становить 48 годин, що також перевищує значення інших бактерій та дріжджів.

Таблиця 1.2

Приклади умов синтезу гіалуронової кислоти мікроорганізмами

Біологічний агент	Джерело вуглецю та енергії, г/л	Тривалість культивування, год	Вихід гіалуронової кислоти, г/л	Особливості процесу біосинтезу	Використана література
<i>S. zooepidemicus</i> HA-13-06	Глюкоза - 70 г/л	24	4.75	Аерація 1 vvm; температура від 31 °С до 37 °С; рН від 8,0 до 7,0; швидкість мішалки 250 об/хв.	(Liu та ін., 2018).
<i>Corynebacterim glutamicum</i> ATCC13032	Глюкози - 40 г/л	48	8.3	Аерація 1 vvm; температура 28 °С; рН = 7,2; швидкість мішалки 600 об/хв.	(Cheng, Gong, Yu, & Stephanopoulos, 2016).

<i>Bacillus subtilis</i> 168	Сахароза - 15 г/л	24	3.16	Аерація 2,0 vvm; температура 37 °С; рН = 7,0; швидкість мішалки 600 об/хв (перша стадія бродіння), 800 об/хв (друга стадія бродіння)).	(Jin, Kang, Yuan, Du, & Chen, 2016).
<i>Escherichia coli</i> BL21	Глюкоза - 50 г/л	12	0.53	Температура 37 °С, рН 7, швидкість мішалки 200 об/хв.	(Тео, & Lai, 2019).

У синтезі глутатіону, що являє собою поширену сполуку для медичних та косметологічних цілей, беруть участь два ферменти: γ -глутамілцистеїнсинтетаза і глутатіонсинтетаза. Перший фермент задіяний в утворенні γ -глутамілцистеїну, який з'єднується з гліцином за допомогою глутатіонсинтетази з наступним утворенням глутатіону. Біфункціональна γ -глутамілцистеїнсинтетаза була виявлена у таких грампозитивних бактеріях, як: *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus agalactiae* та *Pasteurella multocida*. Тобто, дані бактерії можуть використовуватись для біосинтезу даної БАР. Наразі глутатіон в основному виробляється шляхом бродіння. *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis* - дріжджі, що застосовуються для промислового виробництва глутатіону через їх здатність до природного накопичення даної речовини всередині клітини. Культивування дріжджів характеризується швидкістю росту, дешевизною середовищ та можливістю масштабування процесу. Недоліком використання дріжджів в якості продуцентів глутатіону є складність механізму регуляції процесу. Слід зазначити, що вихід глутатіону дріжджами дикого типу становить 0,1–1%. Натомість класична селекція характеризується підвищенням виходу даної БАР до 3–5% ((Юрків, 2015; Tang, 2015).

Hansenula polymorpha здатні природним чином синтезувати глутатіон, шляхом двох послідовних реакцій за участю ферментів γ -глутамілцистеїнсинтетази та глутатіонсинтетази. Перший фермент піддається зворотньому інгібуванню глутатіону, що призводить до блокування накопичення даної БАР в клітинах. У ході досліджень вчених виявлено, що посилення експресії гена GSH2, що кодує γ -глутамілцистеїнсинтетазу, так і MET4, що кодує транскрипційний активатор генів біосинтезу цистеїну, що є попередником глутатіону, призводить до стимулювання виробництва глутатіону даним видом дріжджів. Вчені зробили висновок, що посилення експресії генів GSH2 та MET4, з одночасною оптимізацією умов синтезу глутатіону, призводить до максимальної його продукції. Для досягнення даної цілі було сконструйовано плазмиду pUC19/prGAP_MET4/NTC. Вектор pUC19/prGAP_MET4/NTC вводили в обраний штам дріжджів *H. polymorpha* за допомогою методу електропорації (Юрків та ін., 2015).

Рекомбінантний штам *H. polymorpha* з посиленою експресією генів GSH2 та MET4 проявив підвищену продуктивність щодо синтезу внутрішньоклітинного та позаклітинного глутатіону на 96 годинах культивування у 7,6 рази, порівняно зі штамом «дикого» типу *H. polymorpha* DL-1. Наявність в культуральному середовищі цистеїну (попередника глутатіону) призвело до посилення його продукції через 3 години культивування (Юрків та ін., 2015).

Юрків та ін. проводили дослідження здатності *H. polymorpha* синтезувати глутатіон. Культивування проводили у біореакторі об'ємом 100 л з мінеральним середовищем, аерація становила 1 об'єм повітря на 1 об'єм середовища, показник перемішування - 200 об./хв., рН знаходився в межах 5,0—5,5. Після 20 годин культивування у середовище додавали попередник глутатіону концентрацією 1 ммоль/л. Весь період ферментації займав 58 годин. Слід зауважити, що культивування у біореакторі характеризується більшим виходом глутатіону ніж у колбі. Юрків та ін. виявили, що

максимальний вихід глутатіону спостерігався на 28—34 годинах культивування і становив близько 1,35 г/л (Юрків та ін., 2015).

Для виробництва α -арбутину, що являє собою потужну відбілюючу речовину, використовується амілосахараза з *Xanthomonas campestris* 8004, що здатна повністю перетворити гідрохінон до α -арбутину за допомогою реакції глікозилювання, використовуючи високу концентрацію сахарози, що являє собою донором глікозиду. Відомо, що фермент з *X. campestris* здатний майже повністю глікозилювати гідрохінон до α -арбутину. Оптимальне значення рН для реакції глікозилювання за допомогою амілосахарази становило рН 7,5, а збільшення рН характеризується різким зниженням активності глікозилювання. Амілосахараза продемонструвала більш швидку реакцію глікозилювання та вищу продуктивність α -арбутину порівняно з ферментом амілосахаразою з *Deinococcus geothermalis* (Zhu та ін., 2019).

Метод цільноклітинного каталізу рекомбінантними клітинами *E. coli* з використанням амілосахарази вважається кращим способом синтезу α -арбутину ніж ферментативний каталіз. Біотрансформація цілої клітини має переваги у вигляді низької толерантності до продуктів окислення гідрохінону. Крім того, даний метод виробництва є дешевим, простим у масштабуванні через відсутність потреби у лізисі клітин і очищенні ферментів. Zhu та ін. проводили біотрансформацію цілої клітини з періодичним підживленням у реакторі на 5000 л для виробництва α -арбутину з кінцевою його концентрацією 375–397 мМ (102–108 г/л). Дану БАР після синтезу можна швидко відокремити від цільноклітинного каталізатора методом мікрофільтрації з отриманням високоочищеного продукту (Zhu та ін., 2019).

Висока концентрація арбутину (61,7 г/л) спостерігається при використанні *Xanthomonas maltophilia* BT-112 в якості біокаталізатора під час періодичної ферментації з підживленням. Під час бродіння у культуральну рідину додавали 250 мл розчину сахарози, таку ж саму кількість розчину гідрохінону та 6,25 г дріжджового екстракту. Також Liu та ін. контролювали

кількість розчинного кисню у культуральному середовищі. Вчені вважають, що цей показник важливий для високого виходу арбутину. Відомо, що вихід арбутину з часом збільшується, тому час бродіння *Xanthomonas maltophilia* BT-112 протягом 72 год було визнано оптимальним для високого виходу арбутину (Liu та ін., 2013).

1.7. Альтернативні джерела космецевтики

Морське середовище забезпечує фармацевтичну, космецевтичну та харчову промисловості важливими біоактивними речовинами. Наприклад, морські біологічно активні білки та пептиди здатні проявляти різноманітні властивості: антиоксидантну, протимікробну, протипухлинну, імуномодулюючу, антигіпертензивну, антикоагулянтну та протидіабетичну дію. Рибна промисловість характеризується високим рівнем відходів продукції. Для вирішення даної проблеми дані проміжні продукту почали використовувати як джерела необхідних БАР, корисних для здоров'я людини. Відомо, що відходи рибопереробки багаті на корисні білків, які слугують джерелом для видобутку біоактивних пептидів. Так колаген, що широко застосовується в косметиці в якості зволожуючої речовини, можна отримати зі шкіри, кісток та луски риби. Джерелом активних пептидів є морська риба, що піддається хімічному або ферментативному гідролізу. Пептиди у неактивній формі переходять в активну після гідролізу ферментами такими як трипсин, протеїнази, хімотрипсин, алкалази і пепсин (Venkatesan, Anil, Kim, & Shim, 2017).

Риб'ячий колаген вважається кращим за колаген ссавців через нижчу денатурацію, температуру плавлення, вищу поглинальну здатність, слабший запах та різноманітний склад, а також безпечність. Колаген типу I, який отримують із риб'ячої луски, кісток та плавального міхура, є майже ідентичний до людського колагену шкіри, тому широко застосовується у складі космецевтики (Siahaan, Pangestuti, Shin, & Kim, 2022).

Астаксантин проявляє сонцезахисну, антиоксидантну, антивікову, зволожуючу, ранозагоювальну дію. Дану БАР виділяють з панцирів

ракоподібних за допомогою органічних розчинників, олій та методом зеленої екстракції. Астаксантин екстрагували з висушених панцирів болотних раків етанолом з наступною колонковою хроматографією для очищення речовини. Також астаксантин отримують з є панцира креветок шляхом попередньої ферментації *Saccharomyces cerevisiae* з подальшою екстракцією гексаном та ацетоном у співвідношенні 1:1 (Siahaan, Pangestuti, Shin, & Kim, 2022).

Хітин та хітозан також добувають із панцирів ракоподібних. Даний процес складається з двох етапів, включаючи депротейнізацію з обробкою лугом за високої температури та демінералізацію з використанням розведеної соляної кислоти. Після даних перетворень утворюється хітин світло-рожевого кольору, тому проводиться наступне відбілювання за допомогою перманганату калію, щавлевої кислоти або перекису водню для отримання безбарвної речовини (Vazquez та ін., 2013).

Хітин перетворюється на хітозан за допомогою часткового деацетилювання в лужних умовах. Дані речовини отримують з відходів морепродуктів методом їх ферментації з використанням молочнокислих бактерій. Депротейнізація даних відходів та розрідження білків відбувається в основному за допомогою протеолітичних ферментів, що виробляються молочнокислими бактеріями, бактеріями кишечника кишкової системи ракоподібних або протеазами, присутніми у вихідному побічному продукті. Для ферментації відходів креветок використовували *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Pediococcus acidolactici* і *Lactobacillus helveticus*. Крім молочнокислого бродіння використовують немолочнокисле бродіння з використанням *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.* і *Aspergillus sp.* (Vazquez, 2013; Younes, 2015).

Біологічні способи добування хітину та хітозану мікроорганізмами характеризуються простотою, високою продуктивністю та екологічністю, в порівнянні з хімічними методами отримання. Проте існують певні недоліки мікробної ферментації: довший час обробки порівняно з хімічними методами, гірша доступність протеаз, що виникає через присутність

мінералів, які призводять до високого залишкового білка. Біотехнологічне одержання високо очищеного хітину повинне завершуватись м'якою хімічною обробкою для видалення залишків білка та мінералів (Younes, & Rinaudo, 2015).

БАР рослинного походження характеризуються як хімічні елементи, що не беруть безпосередньої участі у рості рослини, натомість утворюються для захисту від хижаків, патогенів, сонячного випромінювання тощо. Рослини можуть містити наступні БАР: тритерпеноїди, яблучна кислота, транс-корична кислота, гінзенозид RG3, катехін, уридин тощо. Дані речовини здатні проявляти антиоксидантні, протизапальні та антибактеріальні властивості тощо. Отримання БАР рослинного походження природним способом вважається непрактичним через низьких вихід речовин. Хімічний синтез супроводжується утворенням небажаних побічних продуктів. За допомогою генно-інженерних мікроорганізмів, таких як *Corybacterium glutamicum*, *Escherichia coli* та *Lactococcus lactis*, *Saccharomyces cerevisiae* також можна отримати бажані активні речовини. Виробництво ресвератролу, що проявляє властивості проти старіння, з використанням рекомбінантних мікроорганізмів характеризується вищим виходом (2,34 г/л), ніж за участі рослин (0,36 мг/кг з *Vitis vinifera* плодів). Культивування рослин *in vitro* також використовується як стійка альтернатива для виробництва БАР рослинного походження. Даний метод культивування має певні переваги, в порівнянні з використанням цілих рослин, а саме: високоефективне видалення патогенів, використання біореактора, що призводить до зменшення експлуатаційних витрат, легке очищення та переробка природної сировини (Bouzroud та ін., 2023).

Морські водорості позитивно впливають на здоров'я шкіри людини, проявляючи фотозахисні, зволожуючі, протизапальні, протипухлинні та антиоксидантні властивості, незначні антибактеріальні тощо. Мікоспориноподібні амінокислоти, пігменти, фенольні сполуки - поширені речовини водоростей, що широко застосовуються у космецевтиці. Первинні

метаболіти морської флори, такі як агар, альгінат і карагенан, використовуються для створення відповідної консистенції косметичних продуктів (Kasanah, Ulfah, Imania, Hanifah, & Marjan, 2022).

Морські водорості класифікують на три групи в залежності від пігментного складу: зелені (Chlorophyta), бурі (Phaeophyceae) і червоні (Rhodophyta). Червоні морські у своєму складі містять значну кількість мікоспориноподібних амінокислот, що захищають шкіру від фотостаріння та проявляють антиоксидантні властивості (Kasanah, Ulfah, Imania, Hanifah, & Marjan, 2022).

Вилучення БАР з водоростей може проводитись методами надкритичної флюїдної екстракції, екстракції за допомогою мікрохвиль, екстракції рідини під тиском або за допомогою ферментів тощо. Використання ферментів для екстракції активних речовин має певні переваги в порівнянні з іншими методами, а саме: висока вибірковість, ефективність, швидкість, екологічність, низьке споживання енергії, мінімальне використання хімікатів, максимальний вихід бажаної речовини тощо. Використовують лігнінолітичні, целюлолітичні та протеолітичні ферменти в якості активних біокаталізаторів. Обробка або каталіз на основі ферментів супроводжуються легким руйнуванням та/або гідролізом складних матеріалів клітинних стінок (КС) та мембранах, наприклад, альгінатів, що призводить до збільшення проникності КС і легкого виходу БАР (Sosa-Hernandez, Escobedo-Avellaneda, Iqbal, & Welti-Chanes, 2018).

РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА КОСМЕЦЕВТИЧНОГО ЗАСОБУ (КЗ)

2.1. Аналіз фармакологічних властивостей цільового косметичного засобу на основі обраної субстанції, галузей використання, потреби у косметичному засобі (нинішня та враховуючи перспективи)

Арбутин являє собою гідрохіноновий глікозид, що знайшов широке застосування в космецевтиці за рахунок здатності пригнічувати активність тирозинази – ферменту, що бере участь у процесах синтезу меланіну (меланогенезу) (Wang та ін., 2018).

Меланін є кольоровим пігментом шкіри, волосся, очей та інших тканин. Він синтезується в меланосомах, розташованих в епідермальних меланоцитах, і відіграє ключову роль у підтримці гомеостазу шкіри і її фотозахисту. Порушення регуляції метаболізму меланіну, посилення його синтезу призводить до пігментних розладів шкіри, таких як гіперпігментація, мелазма тощо (Воо, Y. C., 2021).

Так, як арбутин є інгібітором тирозинази, то він широко використовується для освітлення шкіри та лікування гіперпігментації, внаслідок порушення утворення шкірного пігменту. Діє арбутин без побічних ефектів, таких як подразнення, алергічний контактний дерматит та інша цитотоксичність. Дана БАР широко використовується у медицині та косметичній промисловості, проявляючи антиоксидантну, антимікробну, протизапальну, антивікову, протидіабетичну, сечогінну активність тощо (Zhu та ін., 2019; Polouliakh та ін., 2020).

У дослідженні Такії та ін. виявили, що арбутин здатний сповільнювати

					НУХТ БТЕК 02.02.06 КР ПЗ			
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		Зьолко Т.В.			РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО- ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА КОСМЕЦЕВТИЧНОГО ЗАСОБУ (КЗ)	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		Пенчук Ю.М.					40	105
<i>Консульт.</i>						Кафедра БТМ		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		Стабніков В.П.						

підвищення рівня цукру в крові після прийому їжі. Тобто, існує можливість використовувати арбутин в якості ефективною добавки для контролю рівня цукру в крові хворих на діабет (Saeedi, Khezri, Seyed Zakaryaei, & Mohammadamini, 2021).

Розрізняють α -арбутин і β -арбутин. Обидва ізомери зазвичай використовуються в косметиці для відбілювання шкіри та терапії гіперпігментації, але α -арбутин демонструє в десять разів сильнішу інгібіторну активність тирозинази, ніж β -арбутин (Zhu та ін., 2019).

2.2. Обґрунтування вибору форми випуску космецевтичного засобу (КЗ)

Космецевтична продукція на території України представлена різними формами випуску. Кремоподібна форма займає найбільший відсоток та становить близько 60 % косметичного ринку. Рідка форма випуску (розчини, лосьйони) становить 20 %, на гелеподібні космецевтичні засоби припадає 15 %. Найменша частка включає в себе порошкоподібну космецевтику (приблизно 1,8 %). До виключно косметичних форм випуску належать: шампуні бальзами, тоніки, маски, пудри та лаки, які крім терапевтичної дії проявляють ще й косметичний ефект, тобто очищаючий, пом'якшувальний, зволожувальний, декоративний тощо (Лебединець, Казакова, Казакова, 2018).

2.2.1. Обґрунтування форми випуску КЗ

Вибір форми випуску космецевтичного засобу є важливою складовою його розробки. Арбутин являє собою активний компонент космецевтики, головною властивістю якого є освітлення шкіри. Тому підбір форми випуску КЗ з арбутином має ґрунтуватися на розкритті максимальної дії даної БАР. Для досягнення кращого результату доцільно обрати форму випуску у вигляді сироватки для обличчя,.

Сироватка являє собою висококонцентрований продукт на водній або олійній основі. Концентрація активних речовин у сироватці може досягати 70 % та перевищує даний показник у кремовій формі. КЗ у вигляді сироватки дозволяє швидше і ефективніше активним компонентам проявляти свою

терапевтичну дію, що прискорює очікуваний результат від використання космецевтики.

Косметична сироватка характеризується меншою в'язкістю і як наслідок – швидше поглинається та проникає в шари шкіри, забезпечуючи максимальний ефект від використання.

У складі сироватки зазвичай міститься мінімальна кількість компонентів. Дана форма КЗ позбавлена надмірної кількості непотрібних добавок, наповнювачів тощо. Сироватка не обов'язково представлена емульсією тому не потребує емульгаторів, здатних пошкодити активний інгредієнт. Як правило, косметична сироватка містить кілька інгредієнтів, призначених для оптимізації доступності активного агента, який може бути представлений вітаміном, біологічно активною речовиною, кислотою тощо (Thorat, Bhadane, Wagh, Gaikwad, Chhajed, 2023).

Таким чином, сироватка з арбутином буде перспективною косметичною формою, що забезпечить швидкий та повний ефект відбілювання шкіри.

2.2.2. Обґрунтування вибору первинної упаковки

Після вибору форми випуску для космецевтичного засобу слід приділити увагу вибору матеріалу та виду первинної упаковки, який здійснюється на етапі розробки космецевтичного засобу. Первинна упаковка являє собою бар'єр між самим засобом та зовнішнім середовищем. Вибір первинної упаковки повинен проводитися на підставі фізико-хімічних властивостей активних інгредієнтів, допоміжних речовин, з урахуванням форми випуску та технологічного процесу виробництва засобу, умов зберігання, транспортування. Первинна упаковка має забезпечувати стабільність усіх компонентів засобу, якість КЗ протягом всього терміну придатності, надійність транспортування, зберігання, зручність застосування. Захист вмісту космецевтичного засобу від ультрафіолету (якщо компоненти КЗ є світлочутливими), кисню, вологи є основною вимогою до упаковки (Баула, Бессарабов, Тарасенко, 2015).

Оптимальна упаковка для космецевтичної сироватки являє собою герметично закупорений косметичний флакон, що забезпечує низьку ймовірність процесів окислення засобу.

Пакування може безпосередньо впливати на стабільність готового засобу через взаємодію між продуктом, упаковкою та зовнішнім середовищем. Дані взаємодії можуть бути представлені адсорбцією складових продукту в контейнері, корозією, хімічними реакції між складовими частинами засобу та компонентами первинної упаковки тощо. Пакувальний матеріал не повинен містити токсичних речовин, які можуть забруднити продукт або змінити його дію тим чи іншим способом. Виробники косметичної продукції повинні забезпечити, щоб речовини з пакувального матеріалу не мігрували на косметичний продукт та не вступали в хімічні реакції зі складовими компонентами КЗ (Janiewski, 2018; Muntean, 2019).

Скло - пакувальний матеріал, який проявляє високий рівень захисту продукту від вологи, високої температури, повітря. Скляний флакон темного кольору використовується для захисту від УФ-випромінювання та для пакування світлочутливих засобів. Відомо, що скляна тара не взаємодіє з продуктом і тому є хімічно індиферентна по відношенню до нього. Недоліками скляної упаковки є її крихкість, низька стійкість до пошкоджень при падіннях або ударах. Скляна тара зазвичай використовується разом з вторинною картонною упаковкою для захисту від пошкоджень під час транспортування (Janiewski, Jakubowska, Sobiecka, 2018).

Первинна упаковка сироватки представлена скляним матовим флаконом Сідней об'ємом 30 мл та піпеткою (кришкою-крапельницею). Флакон має діаметр 33 см, висоту 79 см та вагу 45 г. Діаметр горловини становить 18 мм, що гарантує надійне закриття косметичного засобу та унеможлиблює його витікання. Флакон є напівпрозорий тому можна легко визначити кількість засобу у первинній упаковці. Висота етикетки становить 50 мм, що дозволяє розмістити на ній повну та необхідну інформацію про

засіб.



Рис. 2.1. Флакони Сідней 30 мл матовий

Піпетка призначена для точного дозування косметичного засобу. Сама піпетка складається зі скляної трубки діаметром 7 мм, довжиною 77 мм. Вага кришки-крапельниці становить 5 г. Точність дозування становить 0,05 мл. Виробником скляного флакону та піпетки є Китай.



Рис. 2.2. Кришка-крапельниця (піпетка) Срібна алюмінієва 30 мл

2.3. Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання субстанції для інженерної частини роботи

Арбутин являє собою рослинний глікозид здатний пригнічувати тирозиназу – фермент, що бере участь в утворенні меланіну (природний пігмент), чим зумовлена його відбілююча дія на шкіру. Арбутин широко застосовується в медицині та космецевтиці, проявляючи антиоксидантну, антибактеріальну та протизапальну дії (Liu та ін., 2013).

Порівнявши показники виходу арбутину у табл. 2.1, можна зробити висновок, що лідером біосинтезу даної речовини безумовно є *Escherichia coli* BL21 (108 г/л). Розрахунок вартості 1 л поживного середовища у табл. 2.2 показав, що дана грамнегативна бактерія потребує середовища, яке характеризується найвищим грошовим показником (1 л середовища виходить 515,07 грн.). *Xanthomonas maltophilia* BT-112 продукує 61,7 г/л арбутину, що теж є хорошим результатом, а 1 л поживного середовища для його культивування умовно становить 44,68 грн., що в 11,5 разів менше ніж вартість поживного середовища для *Escherichia coli* BL21.

Варто зазначити, що тривалість культивування *Xanthomonas maltophilia* BT-112 становить 72 години, що лишеу 1,8 разів більше за час культивування *Escherichia coli* BL21, що складає 40 годин.

Додатково слід розрахувати умовну вартість 1 г арбутину, синтезованого на суміші ростових субстратів. Проаналізувавши табл. 2.3, можна зробити висновок, що 1 г цільового продукту синтезованого *Escherichia coli* BL21 умовно коштує 4,77 грн., в той час як вартість арбутину, синтезованого з використанням *Xanthomonas maltophilia* BT-112 становить 0,72 грн., що є найнижчим показником серед розглянутих продуцентів.

Отже, *Xanthomonas maltophilia* BT-112 можна вважати потенційним претендентом для оптимального виробництва арбутину через достатньо високий вихід даної БАР та оптимальні витратні показники для культивування даної грамнегативної бактерії.

Таблиця 2.1

Умови біосинтезу арбутину грамнегативними бактеріями та дріжджами

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Тривалість культивування, год	Вихід арбутину, г/л	Особливості процесу біосинтезу	Використана література
<i>Xanthomonas maltophilia</i> VT-112	Сахароза – 20 г/л; пептон – 5 г/л; дріжджовий екстракт – 3 г/л; MgSO ₄ – 0,5 г/л; K ₂ HPO ₄ – 1 г/л; KH ₂ PO ₄ – 1 г/л; NaCl – 2 г/л. Підживлення: сахароза – 164 г/л; гідрохінон – 26 г/л; дріжджовий екстракт – 2,5 г/л.	72	61,7	Аерація 1 vvm; температура 30 °C; pH=7; швидкість мішалки 300 об/хв. Періодичне підживлення: 250 мл розчину сахарози (концентрація сахарози в культурному середовищі становила 480 мМ) і 250 мл розчину гідрохінону (концентрація гідрохінону в культурному середовищі становила 240 мМ). При імпульсивному живлення + 2,5 г/л дріжджового екстракту.	(Liu, C., Zhang, P., Zhang, S., Xu, T., Wang, F., & Deng, L., 2013).

Закінчення табл. 2.1

<i>Escherichia coli</i> BL21	Дріжджовий екстракт – 15 г/л; триптон – 20 г/л; гліцерин – 10 г/л; КН ₂ РО ₄ – 23 г/л; К ₂ НРО ₄ – 125 г/л; MgSO ₄ ·7H ₂ O - 0,5 г/л. Підживлення: гліцерин - 300 г/л; MgSO ₄ ·7H ₂ O - 10 г/л, вітамін В1 – 0,024 г/л, СоСl ₂ ·6H ₂ O - 2,5 г/л; MnCl ₂ ·4H ₂ O - 15 г/л; CuCl ₂ ·2H ₂ O - 1,5 г/л; борна кислота – 3 г/л; Na ₂ МоО ₄ ·2H ₂ O - 2,5 г/л; Zn(CH ₃ СОО) ₂ ·2H ₂ O - 13 г/л; цитрат заліза - 12,5 г/л.	40	108	Температура 30 °С; рН=6,8; швидкість мішалки 400 об/хв.	(Zhu, L., Xu, M., Lu, C., Chen, L., Xu, A., Fang, J., ... & Chen, X., 2019).
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> P3	Глюкоза - 9 г/л; гліцерин- 18 г/л; соєвий пептон - 20 г/л; MgSO ₄ - 0,732 г/л; К ₂ НРО ₄ – 0,673 г/л. Підживлення: глюкоза - 9 г/л; 4-гідроксибензойна кислота – 0,8 г/л.	60	6,79	Температура 28 °С; рН=6,8. Введення 4-гідроксибензойної кислоти і глюкози через 24 години, 36 годин і 48 годин культивування.	(Wang, S., Fu, C., Bilal, M., Hu, H., Wang, W., & Zhang, X., 2018).
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Бактопептон- 20 г/л; дріжджовий екстракт – 10 г/л; глюкоза - 100 г/л.	144	8,6	Температура 30 °С; швидкість мішалки 220 об/хв.	(Shang, Y., Wei, W., Zhang, P., & Ye, B. C., 2020).

Вартість поживних середовищ для культивування продуцентів арбутину

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації (1, 2, 3)*
<i>Xanthomonas maltophilia</i> BT-112	Сахароза – 20	90	1,8	1
	Пептон – 5	1059	5,295	2
	Дріжджовий екстракт – 3	1100	3,3	3
	MgSO ₄ – 0,5	6,35	0,003175	4
	K ₂ HPO ₄ - 1	120	0,12	5
	KH ₂ PO ₄ - 1	87	0,087	6
	NaCl – 2	90	0,18	7
	Сахароза – 164	90	14,76	1
	Гідрохінон - 26	630	16,38	8
	Дріжджовий екстракт – 2,5	1100	2,75	3
Вартість 1 л середовища – 44,68 грн				
<i>Escherichia coli</i> BL21	Дріжджовий екстракт - 15	1100	16,5	3
	Триптон - 20	17 539,98	350,7996	9
	Гліцерин - 10	90	0,9	10
	KH ₂ PO ₄ - 23	87	2,001	6
	K ₂ HPO ₄ - 125	120	15	5
	MgSO ₄ ·7H ₂ O - 0,5	17	0,0085	11
	Гліцерин - 300	90	27	10
	MgSO ₄ ·7H ₂ O - 10	17	1,7	11
	Вітамін В1 – 0,024	1848	0,044352	12
	CoCl ₂ ·6H ₂ O - 2,5	715	1,7875	13
	MnCl ₂ ·4H ₂ O - 15	199	2,985	14
	CuCl ₂ ·2H ₂ O - 1,5	650	0,975	15
	Борна кислота - 3	80	0,24	16
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O - 2,5	1348	3,37	17
	Zn(CH ₃ COO) ₂ ·2H ₂ O - 13	516	6,708	18
	Цитрат заліза - 12,5	6803,72	85,0465	19
Вартість 1 л середовища – 515,07 грн				

<i>Pseudomonas chlororaphis</i> P3	Глюкоза - 9	40	0,36	20
	Гліцерин - 18	90	1,62	10
	Соевий пептон - 20	240	4,8	21
	MgSO ₄ - 0,732	6,35	0,0046482	4
	K ₂ HPO ₄ - 0,673	120	0,08076	5
	Глюкоза - 9	40	0,36	20
	4-гідроксибензойна кислота - 0,8	4 186,39	3,349112	22
Вартість 1 л середовища – 10,58 грн				
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Бакто-пептон - 20	1059	21,18	2
	Дріжджовий екстракт - 10	1100	11	3
	Глюкоза - 100	40	4	20
Вартість 1 л середовища – 36,18 грн				

Примітка. * - Ціни наведено станом на березень 2023 р. 1 – <https://flagma.ua/saharoza-o1284364.html>; 2 - <https://flagma.ua/pepton-fermentativniy-o13622945.html>; 3 - <https://prom.ua/ua/p1086437845-ekstrakt-drozhzhej.html>; 4 - <https://flagma.ua/magniy-sulfat-proizvodstvo-kitay-o10814600.html>; 5 - <https://flagma.ua/kaliy-fosfornokisly-2-zameshchenny-ch-o2563762.html>; 6 - <https://flagma.ua/monokaliyfosfat-kaliy-fosfornokisliy-odnozamishcheniy-o13623010.html>; 7 - <https://labormarket.com.ua/ua/p1726597300-natrij-hloristyj-hch.html>; 8 - <https://flagma.ua/gidrohinon-o10124397.html>; 9 - <https://shop.hlr.ua/pepton-tripton-dmikrobiologii-pankreaticheskiy-gidrolizat-kazeina-500-g-233741.html>; 10 - <https://flagma.ua/hlitseryn-farm-kharchovyi-o14746799.html>; 11 - <https://flagma.ua/sulfat-magniyu-magniy-sirchanokisliy-7-vodniy-o13622840.html>; 12 - <https://flagma.ua/vitamin-b1-tiamin-o13538864.html>; 13 - <https://prom.ua/p1355432952-kobalt-hloristyj-1kg.html>; 14 - <https://flagma.ua/marganec-hloristiy-hlorid-margancyu-o13623023.html>; 15 - https://www.covalent.com.ua/ru/shop/copper_chloride/; 16 - <https://zakupka.com/p/165384413-bornaya-kislota-kupit-v-lyubom-kolichestve-s-dostavkoy/>; 17 - <https://flagma.ua/molibdat-natriyu-natriy-molibdenovokisliy-o13623014.html>; 18 - <https://labormarket.com.ua/ua/p919962864-tsink-uksusnokislyj-atsetat.html>; 19 - <https://shop.hlr.ua/jelezoiiii-citrat-gidrat-98-1-kg-245201.html>; 20 - <https://flagma.ua/glyukoza-harchova-dekstroza-o12644117.html>; 21 - [https://snabhim.com.ua/soevuy-izolyat?gclid=Cj0KCQiA6LyfBhC3ARIsAG4gkF_K4Mc3I4DfEyJkoAMhh7M0dXxn5ix_Kdlif9XEbRwpJm4huSPg81oaAsevEALw_wcB](https://snabhim.com.ua/soevuy-izolyat?gclid=Cj0KCQiA6LyfBhC3ARIsAG4gkF_K4Mc3I4DfEyJkoAMhh7M0dXxn5ix_Kdlif9XEbRwpJm4huSPg81oaAsevEALw_wcB;); 22 - <https://shop.hlr.ua/ua/4-gidroksibenzoynaya-kislota-99-thermo-fisher-scientific-1-kg-241167.html>.

Умовна вартість 1 г арбутину, синтезованого даними продуцентами

Біологічний агент	Концентрація арбутину, г/л	Тривалість культивування, год	Кількість арбутину, утвореної за годину, г/год	Вартість 1 л середовища, грн/л	Умовна вартість 1 г цільового продукту, грн/г
1	2	3	4	5	6
<i>Xanthomonas maltophilia</i> BT-112	61,7	72	0,86	44,68	0,72
<i>Escherichia coli</i> BL21	108	40	2,7	515,07	4,77
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> P3	6,79	60	0,11	10,58	1,56
<i>Yarrowia lipolytica</i>	8,6	144	0,06	36,18	4,21

2.4. Розрахунок потреби у субстанції для випуску косметичного засобу та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції (кінцеві цифри - загальний об'єм культуральної рідини за рік та об'єм культуральної рідини за цикл)

Таблиця 2.4

Вихідні дані для розрахунку річної потреби в арбутині

Захворювання (профілактика)	Кількість засобу на добу	Вміст арбутину в дозі засобу на добу	Тривалість прийому, днів	Кількість арбутину (в мл) на 1 людину	Кількість хворих в Україні на 2022 рік	Загальна кількість арбутину на всіх хворих
Гіперпигментація шкіри	3 кр	0,034 мл	182	6,1 мл	30 457	187,6 л (кг)

Всього: 187,6 кг

На сьогоднішній день на території України більшість косметичної продукції з арбутином є імпортною та постачається з-за кордону. Українські виробники космецевтики такі як Pharmika, YUCOS, White Mandarin випускають засоби з арбутином або екстрактом мучниці, що містить дану БАР, у вигляді сироваток, масок, пілінгів та розчинів.

Згідно з таблицею 2.4, потреба в арбутині для лікування гіперпігментації становить 187,6 кг. Так, як космецевтика з арбутином широко імпортується, а Україна має три виробника даної продукції, пропонуємо виготовляти 25% арбутину від загальної потреби.

Отже, вироблення арбутину буде сягати кількості:

$$G_{\text{гп}} = 187,6 * 25 / 100 = 46,9 \text{ кг/рік.}$$

Обраний біологічний агент *Xanthomonas maltophilia* ВТ-112 виробляє арбутин у кількості 61,7 г/л (кг/м³). Об'єм культуральної рідини, необхідної для отримання 46,9 кг арбутину, становить:

$$61,7 \text{ кг} - 1 \text{ м}^3$$

$$46,9 \text{ кг} - x, \quad x = 0,76 = 0,8 \text{ м}^3$$

З урахуванням втрат цільового продукту при виділенні (40%), необхідно отримати таку кількість культуральної рідини:

$$V_{\text{кр}} = 0,8 * 1,4 = 1,12 \text{ м}^3$$

Для забезпечення річної потреби у арбутині потрібно отримати (з урахуванням втрат під час виділення) 1,12 м³ культуральної рідини. Розрахуємо, скільки культуральної рідини потрібно отримати за цикл ферментації, щоб розрахувати кількість стадій приготування посівного матеріалу. Приймаємо кількість трудоднів – 100, тоді об'єм культуральної рідини за добу становить:

$$V_{\text{д}} = V_{\text{гп}} / T_{\text{тр}} = 1,12 / 100 = 0,0112 \text{ м}^3$$

Кількість продукту за цикл буде становити:

$$V_{\text{цк}} = (K1 * V_{\text{д}} * T_{\text{цф}}) / 24 = (1,1 * 0,0112 * 82) / 24 = 0,04 \text{ м}^3 / \text{цикл,}$$

де $T_{\text{цф}}$ – цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (72 год) та час підготовки ферментера до роботи (10 год). $K1$ – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій ($K1 = 1,1 - 1,5$).

Визначивши об'єм культуральної рідини за один цикл і знаючи коефіцієнт заповнення K_3 , визначаємо геометричний об'єм ферментера:

$$V_{\text{г}} = V_{\text{цк}} / K_3 = 0,04 / 0,6 = 0,06 \text{ м}^3 = 60 \text{ л}$$

РОЗДІЛ 3. ОБҐРУНТУВАННЯ ЕТАПІВ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ КЗ

В літературі представлено відомості про різні методи виділення фенологлікозидів, до числа яких входить і арбутин. Так, фенологлікозиди із лікарської рослинної сировини екстрагують етиловим спиртом різної концентрації (95%; 70%; 40%). Очистка витягу проводиться за допомогою методів осадження, фракційної екстракції тощо. Наступне виділення індивідуальних глікозидів і агліконів проводиться методами адсорбційної хроматографії на силікагелі, поліаміді та алюмінію оксиді (Тарасенко, Пальчевська, Куришко, Григоренко, & Кузьміна, 2012).

Фізико-хімічні властивості арбутину:

- Молекулярна маса – 272,25 г/моль;
- Топологічна площа полярної поверхні – 120 Å²;
- Кількість донорів водневих зв'язків – 5;
- Кількість приймачів водневих зв'язків – 7;
- Добре розчинний у воді та спирті;
- Моноізотропна маса – 272,08960285 г/моль;
- Мало розчинний у діетиловому ефірі; нерозчинний у бензолі, хлороформі, дисульфіді вуглецю;
- Кислотні властивості за рахунок гідроксильної групи.

3.1. Відділення біомаси

Культуральна рідина являє собою складну колоїдну систему, що формується з суміші живильного середовища, культур мікроорганізмів, продуктів життєдіяльності та відпрацьованих газів (Чебан, 2017).

					НУХТ БТЕК 02.02.06 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Зьолко Т.В.			РОЗДІЛ 3. ОБҐРУНТУВАННЯ ЕТАПІВ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ КЗ	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Пенчук Ю.М.					52	105
Консульт.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Відділення мікроорганізмів від середовища можливо різними методами, найпоширенішими є центрифугування та фільтрування.

Центрифугуванням відокремлюють зазвичай бактерії. Час центрифугування й число оборотів залежать від розмірів клітин. Чим вони менші, тим більше повино бути оборотів і тим тривалішим має бути час центрифугування. Найчастіше центрифугування проводять протягом 15-20 хв при 5-10 тис. обертах за хв. Після центрифугування надосадову рідину обережно зливають та промивають осад злегка підкисленою дистильованою водою (1 мл концентрованої HCl на 1 л води) і знову піддають центрифугуванню при тій же кількості обертів. Після зупинки центрифуги варто негайно злити супернатант, інакше частина осаду може бути втрачена.

Мицелій актиноміцетів і грибів відокремлюють фільтруванням. Осад на фільтрі піддають багаторазовому промиванню підкисленою дистильованою водою. Для відділення бактерій оптимальним є використання мембранних фільтрів. Розміри пор мембранного фільтра повинні бути менші від величини клітин, біомасу яких визначають у ході роботи. Мембранний фільтр поміщають на пористу пластинку спеціального держателя (Чебан, 2017).

Оскільки цільовий продуцент *Xanthomonas maltophilia* BT-112 є представником бактерій, для відділення клітин обираємо метод центрифугування (Liu та ін., 2014).

Згідно із дослідженнями Liu та ін., клітини продуцента α -арбутину *Xanthomonas* CGMCC 1243 можна відокремити центрифугуванням при швидкості обертів 4 200 об/хв протягом 20 хвилин. В результаті дослідники отримали супернатант, що містить арбутин (Liu та ін., 2013).

3.2. Виділення та очищення арбутину

Так, Liu та ін. запропонували метод виділення арбутину за допомогою одностадійної адсорбційної хроматографії на макропористій смолі.

Вибір адсорбентів для виділення арбутину здійснювався в залежності від їх фізичних властивостей, що наведені в таблиці 3.1.

Фізичні властивості адсорбентів, що використовуються для виділення арбутину

Смола	Полярність	Діаметр частинок (мм)	Площа поверхні (м ² /г)	Середній діаметр пор (нм)
НКА-9	полярний	0,3–1,25	250–290	15,5–16,5
НКА-II	полярний	0,3–1,25	160–200	14,5–15,5
S-8	полярний	0,3–1,25	100–120	28,0–30,0
AB-8	слабополярний	0,3–1,25	480–520	13,0–14,0
HPD100	неполярний	0,3–1,25	600–630	10,0–12,0
X-5	неполярний	0,3–1,25	500–600	29,0–30,0

Макропористі смоли оцінювали за їх адсорбційною та десорбційною здатністю, а також визначали коефіцієнт десорбції. Також проводили випробування на динамічну адсорбцію та десорбцію з використанням скляної хроматографічної колонки під нормальним тиском (внутрішній діаметр 10 см × 2 см), заповненій попередньо обробленою макропористою смолою S-8 (10 г сухої маси) при значенні BV (об'єм шару) 18,9 мл. Висота шару смоли становила 6,0 см. Після адсорбції колонку елюювали дистильованою водою для видалення домішок, а саме білків та залишкового цукру. Екстракт, багатий арбутином, елюювали 4-ма об'ємами 25% розчину етанолу зі швидкістю потоку 0,5 л/год, з наступним збиранням всіх фракцій. Регенерацію смоли проводили з використанням 95% етанолу.

Також смоли порівнювали за адсорбційною здатністю. Показники адсорбційної здатності та коефіцієнтів десорбції макропористих смол представлені у таблиці 3.2 (Liu та ін., 2013).

Проаналізувавши дані таблиці, можна зробити висновок, що S-8, HPD100, X-5 проявляють сильнішу адсорбційну здатність ніж інші види макропористих смол. Серед перелічених смол HPD100 має більшу площу поверхні, а S-8 та X-5 характеризуються високими показниками діаметром пор. Тому для подальшого дослідження адсорбційної активності смол було використано смоли S-8 та X-5.

Результати адсорбційної здатності та коефіцієнтів десорбції смол

Показник	НКА-9	НКА-II	S-8	AB-8	HPD100	X-5
Адсорбція (мг/г смоли)	31.5	58.5	115.5	87	70.5	112,5
Коефіцієнт десорбції (%)	86	95	93	79	80	95

На наступному етапі дослідження порівнювались криві кінетики адсорбції арбутину на смолах S-8 і X-5 окремо. Виявлено, що адсорбційна здатність арбутину посилюється із збільшенням часу адсорбції. Протягом першої години дослідження арбутин швидко захоплювався, а далі спостерігалось уповільнення швидкості адсорбції. Рівновага адсорбції спостерігалася через дві години. Порівнявши дані, дослідники зробили висновок, що адсорбційна здатність S-8 щодо арбутину була вищою, ніж у X-5 незалежно від часу. Тому для наступних досліджень використовували смолу S-8.

За використання такого способу виділення чистота цільового продукту арбутину становить 97,3% (Liu та ін., 2013).

Отже, після проведення адсорбційної хроматографії отримано очищений розчин арбутину. Для одержання товарної форми порошку слід провести наступні стадії виділення продукту.

Так, у патенті CN104558066A (Gao, 2015) описано технологію отримання арбутину з рослинної сировини. Винахід розкриває спосіб екстракції арбутину високої чистоти. Спосіб екстракції, зокрема, включає наступні етапи: промивання та сушіння, подрібнення рослини за допомогою ультразвукових хвиль і додавання рослини в полярний розчин, проведення екстракції зі зворотним холодильником при температурі 30-100 °C, об'єднання екстракційного розчину та відновлення екстрагента для отримання грубого продукту; додавання грубого продукту в полярний

розчинник для розчинення, потім проведення мембранної фільтрації та розділення, збір відфільтрованого розчину, охолодження та витримання протягом 5-24 годин для отримання кристалів; потім додавання кристалів у полярний розчинник для розчинення, очищення за допомогою макропористої смоли, а після десорбції розчин збирають, виконуючи роторне випаровування, концентрацію та вакуумне заморожування та висушування для отримання готового продукту. Спосіб отримання арбутину, запропонований у даному винаході, вирізняється високою чистотою продукту, нетоксичністю процесу, економічністю та безпечністю для навколишнього середовища (Gao, 2015).

Оскільки при застосуванні методу виділення арбутину шляхом одностадійної адсорбційної хроматографії на макропористій смолі, з культуральної рідини отримуємо високоочищений розчин цільової сполуки, для отримання товарної форми слід здійснити такі стадії, як випарювання, концентрування, заморожування та висушування для отримання сухого порошку арбутину, згідно методу з патенту CN104558066A (Gao, 2015).

Розглянемо детальніше процеси отримання арбутину.

3.3. Випарювання та концентрування

Серед методів концентрування нативних розчинів виділяють випарювання.

Випарювання являє собою процес утворення парової фази, який відбувається в усій масі рідини і, головним чином, на межі між паровою бульбашкою і рідиною. Випарювання спостерігається при температурі кипіння, за якої тиск насиченої пари рідини відповідає зовнішньому тиску. Випарювання – тепловий процес, що використовується для зневоднення розчинів та суспензій з метою концентрації твердої фази або розчиненої речовини. Процес випарювання проводять у випарних апаратах різної конструкції (Карлаш, & Красінько, 2022).

Цільові продукти мікробного синтезу переважно термолабільні та певною мірою можуть інактивуватись при температурах вище 50-80 °C

протягом 5-15 хв. Тому процеси випарювання повинні відбуватися з використанням режимів, що забезпечують мінімальні втрати цільових продуктів під час термічної інактивації (Карлаш, & Красінько, 2022).

Згідно із літературними даними, водний розчин арбутину є відносно стабільним при температурі 40 °C (Arbutin Stability in pH, Heat and Cosmetic Formulation, 2021).

Відомо, що температури кипіння нижче 100 °C досягаються шляхом створення відповідного вакууму у випарних апаратах, тому процес одночасного випарювання та концентрування очищеного розчину арбутину будемо проводити у вакуум-випарному апараті (Карлаш, & Красінько, 2022).

3.4. Заморожування та вакуумне висушування

Висушування із замороженого стану у вакуумі широко використовується у медицині, харчовій, мікробіологічній, хімічній та інших галузях промисловості. Проте, вперше технологія вакуумної сублімаційної сушки знайшла застосування у фармацевтичній галузі, де вона часто не має альтернативи (Гуріна, Висеканцев, & Устиченко, 2022).

Процес сублімаційної сушки являє собою зневоднення замороженого матеріалу внаслідок переходу речовини (у вигляді льоду) з твердого стану в газоподібний, минаючи рідку фазу.

Використання методу сублімаційної сушки дає змогу зберегти високий рівень вихідних властивостей продукту. Це відбувається завдяки тому, що заморожування забезпечує фіксацію найважливіших властивостей продукту, а наступна сублімація льоду створює пористу структуру. При цьому сублімаційне зневоднення відбувається при м'яких умовах термообробки у вакуумі та дозволяє отримати кінцеву вологість, що сягає декількох відсотків. В результаті якість сублімованих продуктів дуже висока.

Технологія вакуумної сублімаційної сушки формується з трьох взаємопов'язаних етапів:

- Перший етап являє собою попереднє заморожування об'єктів сушки;
- На другому етапі відбувається видалення замороженої вологи з

об'єктів сушки за допомогою фазового переходу "лід-пара";

- Третій етап передбачає видалення решти не замороженої вологи шляхом випаровування з наступним досушуванням для доведення кінцевої вологості матеріалу до конкретного рівня (Гуріна, Висеканцев, & Устиченко, 2022).

Принципова схема установки періодичної дії для сублімаційної сушки біологічної сировини показана на рис. 3.1.

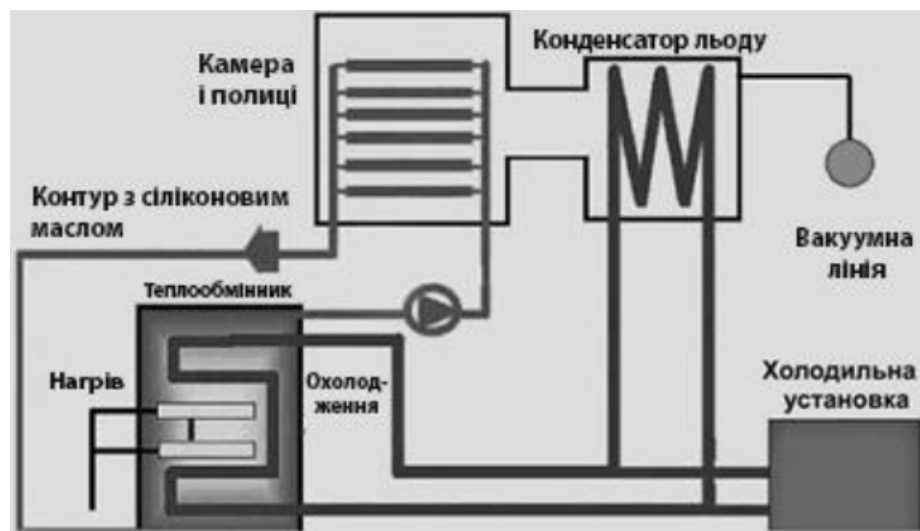


Рис. 3.1. Принципова схема установки для сублімаційної сушки біологічної сировини (Гуріна, Висеканцев, & Устиченко, 2022)

Тобто, продукт, що піддається висушуванню, розмішують на полицях робочої камери (субліматора). Усередині полиць за допомогою насоса циркулює теплоносій (в даному випадку силіконове масло), який охолоджує полиці при заморожуванні продукту (за допомогою холодильної установки) або нагріває їх у період сушки (за допомогою нагрівача).

Робоча камера, за допомогою вакуумної лінії, підключена до вакуумного насоса, що створює необхідний вакуум і відкачує парогазову суміш субліматора. Конденсація водяної пари відбувається в конденсаторі льоду (десубліматорі), куди поступає холодоагент від холодильної установки.

Зазвичай сублімовані продукти упаковуються в тришарові металізовані пакети з азотним наповненням вагою від 2 до 5000 г, залежно від продукту. При упаковці у двошарові плівки термін зберігання становить до 1 місяця, а

при використанні антибактеріальних поліетиленових пакетів – від 2 до 3 тижнів.

Крім сублімаційних сушок широко використовуються сушильні установки для підприємств медичної та мікробіологічної промисловості. Завантаження матеріалу в ці установки зазвичай на рівні 20–75 кг, іноді 100 кг, загальна площа полиць 2–7 або 10 м².

Температура плит може варіюватися в діапазоні від - 30 – 40°C на етапі заморожування і початку сушки до 50–80°C до завершення. Температура десубліматора становить мінус 50–60°C. Робоча сушильна камера має прямокутну, рідше круглу форму. Десубліматор, як правило, виносний, що відокремлюється від основної робочої камери за допомогою вакуумної засувки. Холодопостачання десубліматора та полиць автономне, від холодильних машин, що входять до складу сублімаційної установки. Установки цього класу випускаються серійно всіма фірмами, що спеціалізуються на випуску обладнання для сублімаційної сушки (Гуріна, Висеканцев, & Устиченко, 2022).

Отже, стадія заморожування та висушування отриманого від попередньої стадії концентрату арбутину буде проходити в сублімаційній сушарці, з огляду на простоту, швидкість та ефективність проведення процесу з одночасним отриманням цільового метаболіту належної якості.

Отриманий сублімований порошок арбутину буде пакуватись в тришарові металізовані пакети з азотним наповненням у двох фасуваннях – 1 та 5 кг.

РОЗДІЛ 4. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З УРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ (ДЛЯ ЕТАПІВ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ)

Після обґрунтування стадій отримання арбутину, здійснимо розрахунок з розподілом втрат по стадіях та підбором необхідного обладнання для виділення та очищення цільового продукту у формі сублімованого порошку.

Вихідні дані:

- об'єм культуральної рідини з однієї ферментації - $V_{кр} = 40$ л;
- концентрація арбутину у КР $C_{пк} = 61,7$ г/л ,
- концентрація біомаси у КР $C_{бм} = 4,21$ г/л – АСБ
- втрати на стадіях виділення цільового продукту складають 40%:

початкова кількість цільового продукту, яка поступає з КР складає $40 \text{ л} \times 61,7 \text{ г/л} = 2,46$ кг. Враховуючи 40% втрат, кінцева кількість цільового продукту з однієї ферментації має становити 3,4 кг.

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

					НУХТ БТЕК 02.02.06 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Зьолко Т.В.			РОЗДІЛ 4. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З УРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ (ДЛЯ ЕТАПІВ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ)	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Пенчук Ю.М.					60	105
Консульт.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Таблиця 4.1

Підбір технологічного обладнання з урахуванням матеріальних потоків по стадіях

№ п/п	Назва стадії (операції)	Матеріальні потоки на стадії	Кількість по стадіях			Необхідне обладнання
			Надійшло	Втрати, (Разом 40%)	Вийшло	
1	2	3	4	5	6	7
Відділення клітинної біомаси						
1	Центрифугування культуральної рідини	Культуральна рідина	40 л	-	40 л	Збірник об'ємом 50 л
		Біомаса	0,17 кг (40 л×4,21 г/л)-АСБ, з урахуванням 90% вологості 123 кг		0,17 кг	Центрифуга
		Супернатант	39,83 л (40-0,17)	3,9 л (10%)	35,93 л	- (передається одразу на колонку для адсорбційної хроматографії)
Адсорбційна хроматографія						
2	Адсорбція 25% водним розчином етанолу	Супернатант	35,93 л	-	-	Колонка зі смолою S-8
		Елюент	143,72 л (4 × 35,93)	-	-	Збірник 200 л
		Елюат	35,93 л	3,5 л (10%)	32,43 л	- (передається одразу на випарювання та концентрування)

Випарювання та концентрування						
3	Концентрування розчину арбутину	Елюат	32,43 л	-	-	Вакуум-випарна установка
		Концентрат арбутину	19,4 л (вологість 60%)	1,9 л (10%)	17,5 л	Збірник 20 л
Заморожування та вакуумне висушування						
4	Сублімаційне висушування	Концентрат арбутину	17,5 л	-	-	Сублімаційна сушка
		Сублімований порошок арбутину	3,78 кг	0,37 кг (10%)	3,4 кг	Збірник об'ємом 5 л

РОЗДІЛ 5. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ КЗ

1. Опис

Білі голчасті кристали або кристалічний порошок (Alpha-Arbutin, 2013).

2. Оптичне обертання

Визначають нуль поляриметра й кут оптичного обертання рідини за довжини хвилі 589 нм і за температури $(20 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$, якщо інше не зазначено в монографії. Нуль поляриметра визначають із закритою коміркою для зразка. Для рідин як таких, що не розчинені, нуль визначають із порожньою коміркою для зразка. Для розчинів нуль визначають із коміркою, заповненою тим самим розчинником, що використаний для приготування випробовуваного розчину, і вимірюють за тієї самої температури. Підготування зразка зазначають у монографії. Питоме оптичне обертання обчислюють за температури t і за довжини хвилі λ за наступною формулою (ДФУ 2.0, 2014).

$$[\alpha_m]_{\lambda}^t = \frac{1000\alpha}{l \times c},$$

де α — кут обертання, виміряний за температури t й довжині хвилі λ , у градусах; l — довжина поляриметричної комірки, у дециметрах; ρ_1 — густина, визначена за температури t , у грамах на кубічний сантиметр; для фармакопейних цілей густину заміняють відносною густиною; c — концентрація розчину, у грамах на літр.

Значення питомого оптичного обертання арбутину має становити $+175.0^\circ - +185.0^\circ$.

3. рН

Потенціометрично рН визначають шляхом вимірювання різниці

					НУХТ БТЕК 02.02.06 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Зьолко Т.В.			РОЗДІЛ 5. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ КЗ	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Пенчук Ю.М.					63	105
Консульт.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

потенціалів між двома відповідними електродами, зануреними у випробовуваний розчин: один з електродів чутливий до іонів водню (скляний електрод), другий – електрод порівняння (наприклад, хлорсрібний електрод). Усі вимірювання виконують за тієї самої температури, що й при калібруванні (± 2.5 °C), зазвичай від 20 °C до 25 °C. Електроди занурюють у випробовуваний розчин і вимірюють рН.

Значення рН 1%-го розчину арбутину має бути в межах 5,0-7,0.

4. Втрата в масі при висушуванні

Зважують пустий бюкс для зважування, який має бути попередньо висушений протягом не менше 30 хв, за умов, визначених для випробовуваної речовини. Потім зазначену кількість випробовуваної речовини поміщають у бюкс і зважують. Сушать до постійної маси.

Після висушування в сушильній шафі бюкс із випробовуваним зразком охолоджують до кімнатної температури в ексікаторі, а потім знову зважують.

Значення втрати в масі при висушуванні має становити не більше 0,5%.

5. Сульфатна зола

Підхожий тигель (наприклад, кремнієвий, платиновий, фарфоровий або кварцовий) прожарюють при температурі (600 ± 50) °C протягом 30 хв, залишають до охолодження в ексікаторі над силікагелем або іншою підходящою висушуючою речовиною і зважують. Зазначену кількість випробовуваної речовини поміщають у тигель і зважують. Речовину змочують невеликою кількістю *кислоти сірчаної P* (1 мл) і обережно нагрівають при можливо більш низькій температурі до повного обвуглювання зразка. Після охолодження залишок змочують невеликою кількістю *кислоти сірчаної P* (1 мл), обережно нагрівають до появи білої пари і після її нетривалого виділення залишок прожарюють при температурі (600 ± 50) °C до його повного обвуглювання. Стежать за тим, щоб під час прожарювання не виникало полум'я. Тигель залишають охолоджуватися в ексікаторі над силікагелем або іншою підходящою висушуючою речовиною,

потім знову його зважують і розраховують процентний вміст залишку.

Якщо кількість залишку, одержаного таким чином, перевищує зазначену межу вмісту, залишок повторно змочують *кислотою сірчаною Р* і повторно прожарюють протягом 30 хв таким самим чином, поки 2 послідовних зважування не відрізняться більш як на 0.5 мг або поки процентний вміст залишку відповідатиме зазначеній межі вмісту.

Кількість субстанції, що використовується у випробуванні (від 1 г до 2 г), вибирають так, щоб зазначену межу маси залишку (близько 1 мг) можна було визначити з достатньою правильністю.

Вміст сульфатної золи має становити не більше 0,5%.

6. Температура плавлення

Зразки подрібнюють з утворенням тонкого порошку, а потім подрібнену субстанцію сушать у вакуумі над *силікагелем безводним Р* протягом 24 год. Достатню кількість речовини поміщають у капілярну трубку до одержання щільного стовпчика, як зазначено виробником приладу (наприклад, 4–6 мм заввишки). Підвищують температуру приладу приблизно на 5 °С нижче за передбачувану температуру плавлення, дозволяють температурі стабілізуватись і потім поміщають капілярну трубку у прилад. Далі встановлюють швидкість нагрівання близько 1 °С/хв, якщо не зазначено інше. У разі інструментального детектування для визначення температури плавлення діють відповідно до інструкцій виробника приладу. У разі візуального детектування записують температуру, за якої остання частинка випробовуваної субстанції перейде у рідку фазу. Зразки можуть бути виміряні паралельно, якщо це дозволяють можливості приладу.

Придатність системи. Перед вимірюваннями проводять тест на придатність системи, наприклад підбирають підхожий стандартний матеріал із температурою плавлення, близькою до очікуваної температури плавлення випробовуваної субстанції (ДФУ 2.0, 2014).

Значення температури плавлення має становити від 202 до 210 °С.

7. Ідентифікація

Ідентифікацію арбутину проводять за якісними реакціями.

Досліджуваний зразок розчину арбутину розливають по 0,5 мл у три пробірки з наступним додаванням відповідних реагентів для проведення якісних реакцій на арбутин (Чебан, 2021).

Реакція 1: додають 2-3 краплі 1% розчину FeCl_3 до появи синього забарвлення, що зумовлене утворенням фенолятів заліза за рахунок вільної фенольної групи гідрохінону.

Реакція 2: додавання кристалів сірчанокислового заліза FeSO_4 до появи червоного забарвлення, що швидко переходить у фіолетове. При відстоюванні утворюється темно-фіолетовий осад.

Реакція 3: додають 4 мл розчину аміаку та 1 мл 10 % розчину натрію фосфор-молібденовокислого у хлоридній кислоті – спостерігається синє забарвлення (Чебан, 2021).

8. Кількісний вміст арбутину

Кількісний вміст арбутину визначали за допомогою високоефективної рідинної хроматографії. Для визначення використовували хроматограф Shimadzu LC-10ATvp (Kyoto, Japan) з колонкою C18 з оберненою фазою; розміри колонки 250 x 4,6 мм, 5 мкм. Рухома фаза складалася з водного розчину метанолу в об'ємному співвідношенні 5:95. Швидкістю потоку становила 1,0 мл/хв. Значення довжини хвилі абсорбції становило 280 нм. Кожен зразок фільтрували через мікромембрану з розміром пор 0,45 мкл. Пробу отриманого фільтрату об'ємом 10 мл завантажували в систему ВЕРХ для проведення визначення (Liu та ін., 2013).

Кількісний вміст арбутину має становити не менше 99,5%.

Карта постадійного контролю

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
Кт 1.1 Зберігання культуральної рідини	Культуральна рідина, температура, швидкість перемішування	Термометр, тахометр	Під час зберігання культуральної рідини	$t = 25 \pm 1^\circ\text{C}$ $w = 20-50$ об/хв
Кт 2.1 Центрифугування культуральної рідини	Культуральна рідина, швидкість перемішування, час	Тахометр, таймер	Протягом усього часу центрифугування	$w = 4200$ об/хв $T = 20$ хв
Кт 3.1 Адсорбція 25% розчином етанолу	Супернатант, елюент, швидкість та тривалість адсорбції, висота шару смоли	Таймер	Встановлюють на початку процесу	$v = 0,5$ л розчину/1 год $h = 6$ см
Кт 4.1 Концентрування	Елюат, тривалість випарювання, температура, вологість продукту	Таймер, термометр, вологомір	На початку та в кінці процесу	$T = 1,5-2$ год $t = 40^\circ\text{C}$ $W = 60\%$
Кт 5.1 Сублімаційне висушування	Концентрат арбутину, температура заморожування, температура висушування, вологість продукту	Термометр, вологомір	Упродовж всього процесу	$t_1 = -40^\circ\text{C}$ $t_2 = -60^\circ\text{C}$ $W = 10\%$

РОЗДІЛ 6. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ КЗ

6.1. Розрахунок річної потужності виробництва КЗ та кількості серій на рік

Кількість арбутину, яку одержують з однієї ферментації, становить 3,4 кг. Річне вироблення арбутину сягає кількості 46,9 кг/рік.

У попередніх розділах в якості первинного пакування обрано скляний матовий флакон Сідней об'ємом 30 мл в комплекті з піпеткою (кришкою-крапельницею).

З огляду на характеристики розливної машини моделі R-1A [<https://chumaki.in.ua/ua/p746479151-mashina-rozlivu.html>], її продуктивність досягає 25 шт/хв при дозуванні 5-50 мл.

Якщо в 1 флаконі із сироваткою об'ємом 30 мл міститься 0,034 г арбутину, то 3,4 кг буде знаходитись у такі кількості сироватки:

$$0,034 \text{ г} - 1 \text{ флакон}$$

$$3400 \text{ г} - X \text{ флаконів}$$

$$X = 100\,000 \text{ шт.}$$

Оскільки розливна машина має продуктивність 25 шт/хв, а робочий день триває 8 год=480 хв, то за 1 цикл наповнюється така кількість флаконів:

$$N_{\text{цк}} = 25 \times 480 = 12\,000 \text{ флаконів.}$$

Визначаємо кількість виробничих циклів на рік:

$$N_{\text{ц}} = V_{\text{кр}} / ((V_{\text{д}} \times T_{\text{цф}}) / 24) = 1120 / ((11,2 \times 82) / 24) = 29 \text{ циклів.}$$

де $T_{\text{цф}}$ – цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (72 год) та час підготовки ферментера до роботи (10 год). Якщо протягом року на підприємстві буде 29 виробничих циклів, то отримаємо таку загальну кількість флаконів із сироваткою:

$$N_{\text{флак}} = 100\,000 \times 29 = 2\,900\,000 \text{ шт.}$$

Розрахуємо кількість виготовлених серій на рік:

$$N_{\text{сер}} = N_{\text{флак}} / N_{\text{цк}} = 2\,900\,000 / 12\,000 = 241,7 = 242 \text{ серії.}$$

6.2. Обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень

Підготовка персоналу

Правильне виробництво ліків та космецевтики залежить від робочого персоналу. Наявність кваліфікованого персоналу є обов'язковою умовою виробничого процесу ЛЗ та КЗ, який контролює виробник. Усі працівники повинні знати та документально підтверджувати свою особисту відповідальність. Також увесь персонал має бути обізнаний із принципами належної виробничі практики, що стосується їхньої роботи, і пройти навчання відповідно до їх посади, включаючи інструкції щодо виконання вимог гігієни (Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2016 Лікарські засоби. Належна виробнича практика, 2020).

На виробництвах повинні бути розроблені детальні програми з гігієни праці, що будуть адаптованими до відповідних потреб у рамках підприємства. Вони повинні включати методиками, що стосуються здоров'я, дотримання правил гігієни і одягу працівників. Кожен співробітник, обов'язки якого включають перебування у виробничих зонах та зонах контролю показників якості, повинен знати дані методиками та неодмінно їх дотримуватись. Одним з обов'язків керуючого персоналу є стимулювання розвитку програм з гігієни праці, які слід широко розповсюджувати під час навчальних занять.

Під час працевлаштування співробітники проходять медичний огляд. Виробник відповідальний за наявність інструкцій, згідно яких забезпечується належне повідомлення про стан здоров'я співробітників, який може впливати на якість продукції.

Повинні вживатись заходи, які б гарантували у повній мірі відсутність співробітників з інфекційними хворобами чи відкритими ранами на ділянках виробництва лікарських засобів. Кожна особа, яка працює у виробничих зонах, має носити захисний одяг для належного виконання нею поставлених завдань. Також заборонено їсти, пити, жувати, палити, зберігати їжу, напої, тютюнові вироби чи особисті лікарські препарати у виробничих зонах та

ділянках зберігання. Необхідно забезпечувати відсутність будь-яких маніпуляцій, що порушують гігієнічні вимоги всередині виробничих зон чи в інших зонах при їх негативному впливі на продукцію.

Варто уникати прямого контакту рук персоналу з відкритою продукцією та частиною обладнання, що стикається з продукцією. Персонал має бути обізнаний із правилами застосування засобів для миття рук. Будь-які специфічні вимоги до виробництва особливих груп продукції (стерильні препарати) повинні бути донесені до персоналу (Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2016 Лікарські засоби. Належна виробнича практика, 2020).

Підготовка дезінфікуючих засобів

Сучасні дезінфікуючі засоби являють собою багатокомпонентні композиції діючих і допоміжних речовин, що забезпечують їх дію. За хімічними властивостями діючі речовини класифікуються на наступні групи сполук:

- альдегідовмісні;
- галоїдовмісні;
- кисневовмісні;
- поверхнево активні речовини (ПАР);
- спиртовмісні;
- феноловмісні;
- луги;
- кислоти.

У сучасній дезінфекції найчастіше використовують поверхнево-активні речовини (ПАР), особливо засоби, що містять переважно хлор, у тому числі четвертинні амонієві сполуки (ЧАС) і галогеніди. Перевагами ЧАС є низька токсичність, сприятливі фізико-хімічні та екологічні властивості, наявність миючих властивостей, стабільність самого засобу та його робочих розчинів, простота приготування останніх. Недоліки – відсутність спороцидної дії, недостатньо виражені віруліцидні та протитуберкульозні властивості. Діючі речовини на основі алкіл амінів, в порівнянні з діючими речовинами на

основі альдегідів, мають дещо меншу токсичність для людини та сприятливі фізико-хімічні властивості (Коваленко, 2020).

Гуаніди мають низьку токсичність і є нелеткими, але проявляють слабкі віруліцидні та туберкулоцидні властивості. Дані сполуки здатні утворювати плівки на об'єктах дезактивації, що сприяє подовженню ефекту дезактивації, але це є неприйнятною умовою для високотехнологічних об'єктів дезактивації. Препарати, що містять хлор, є найменш дорогими і мають відносно широкий спектр антимікробної дії. Проте через несприятливі фізико-хімічні властивості вони мають виражену подразнюючу дію на слизові оболонки очей і верхніх дихальних шляхів, а також можуть спричиняти пошкодження об'єктів, що підлягають дезінфекції.

Продукти, що містять альдегіди, мають універсальний антибактеріальний спектр і стійкі до зберігання, але є високотоксичними. Кисневмісні засоби мають значні бактерицидні, віруліцидні, фунгіцидні та спороцидні властивості, але мають несприятливі фізико-хімічні властивості та недостатню стабільність при зберіганні для застосування.

Спиртові препарати характеризуються швидкою дією, але легко випаровуються, тому їх рекомендується використовувати для дезінфекції невеликих предметів і важкодоступного обладнання та вузлів обладнання. Застосування феноловмісних препаратів, кислот і лугів зараз є неактуальним.

Наразі оптимальним є використання дезінфекційних засобів на основі ЧАС, алкіламінів, гуаніну, спиртів, перекисів і альдегідів. В даний час в Україні зареєстровано широкий спектр дезінфікуючих засобів, більшість з яких є багатофункціональними композиціями діючих і допоміжних речовин.

Усі дезінфекційні засоби, занесені до Державного реєстру дезінфекційних засобів, мають однакові юридичні права та застосовуються відповідно до норм (параметрів), встановлених залежно від виду інфекційного захворювання та затверджених у відповідних методичних рекомендаціях чи інструкціях (Коваленко, 2020).

Сьогодні до 75% традиційних хлорвмісних препаратів все ще використовуються, серед них: Дезанол хлор, дезактін, хлорантоїн, Дез Таб, Санідез, Бланідаз Актив, Жавель-Клейд, Бланідаз марки А тощо. Це пов'язано з тим, що ці засоби відносно недорогі та актуальні, особливо в умовах гострої пандемії будь-яким вірусом. У значній кількості застосовуються сучасні високоефективні багатокомпонентні дезінфекційні засоби нового покоління (Полідез, Дескоцид, Гексадекон, Лізоформін, Бріліант, Тріацид, Дескоцид Н тощо). З антисептиків в основному використовуються Манорапід, АХД-2000, Стериліум, Горостен, Хоспісепт, Аніос-гель, Медасепт тощо.

Отже, при виборі дезінфікуючого засобу першочергово слід враховувати вид і ступінь мікробного забруднення, особливості об'єкта дезінфекції, спектр антимікробної дії, безпеку застосування, фізико-хімічні властивості та функціональне призначення дезінфікуючого засобу. Наявність та використання різноманітних дезінфікуючих засобів дає змогу раціонально обирати останні для знезараження різних об'єктів за будь-яких умов (Коваленко, 2020).

Прибирання виробничих приміщень необхідно проводити щодні, а генеральне прибирання - кожні 5-6 днів або відразу за вимогою бактеріолога. Дезінфекція поверхонь у приміщеннях та обладнання зазвичай зменшує кількість мікроорганізмів на 40-60% від їх початкової кількості. При виборі дезінфікуючого засобу слід враховувати не тільки його бактерицидні властивості та спектр дії, а й потенційну токсичність та небезпеку для організму людини (Головей, Гуляєв, 2017).

Для прибирання рекомендують використовувати 2-6 %-вий розчин водню пероксиду, 1 %-вий розчин дегміну, 0,5 % розчин хлорогексидину біглюконату, розчини рецептури «С4» і «Стериліум» або інші відповідні дезінфектанти/детергенти. Разом з тим, тривале використання будь-якого дезінфікуючого засобу може призвести до утворення резистентних штамів мікроорганізмів. Тому дезінфікуючий засіб рекомендується міняти кожні 10-

14 днів або використовувати кілька його видів. Засоби для чищення та дезінфекції, що використовуються в зонах А і В, повинні бути стерильними (Головей, & Гуляєв, 2017).

Підготовка вентиляційного повітря

Одним із завдань підготовки виробництва ЛЗ чи КЗ є очищення повітря у виробничих приміщеннях для запобігання забрудненню біотехнологічних продуктів. Рівень чистоти повітря визначає певний клас чистоти приміщення. Повітря з необхідними показниками має бути отримано за допомогою методів, які пройшли валідацію, мають відповідність технічним і технологічним стандартам або дотримання встановлених процедур компетентним державним органом. Для виробництва стерильної фармацевтичної продукції використовуються традиційні системи турбулентної вентиляції, що забезпечують стерильність повітря в приміщенні, а також системи, що забезпечують ламінарний потік повітря по всій поверхні приміщення або по окремих робочих зонах. У турбулентному потоці очищене повітря містить до 1000 частинок на літр, але при ламінарному потоці в повітрі вміст частинок у 100 разів менший (Головей, & Гуляєв, 2017).

Припливне повітря, що подається в приміщення з класом чистоти С, можна очищати в два етапи, в той же час приміщення з класами чистоти А і В очищають тільки в три етапи. У приміщення класу D може подаватись повітря, очищене фільтром 1 класу. На першому етапі зазвичай використовується фільтр попереднього очищення, який видаляє механічні частинки з повітря. Встановлюється на вході кондиціонера або припливної камери.

Другий етап підготовки повітря здійснюється фільтрами класу ФР5, ФПП, а також такими фільтрами як «MULTISACK» і «MULTIGLAS», які розташовують безпосередньо перед повітрерозподільчим пристроєм. Дані фільтри призначені для тонкої фільтрації повітря від бактерій і твердих часток при кількості пилу 0,5 мг/м³. Третій етап реалізується

стерилізаційними повітряними фільтрами різних конструкцій, наприклад «ABSOFIL», «HEPA», «SUPER-ULPA» зі ступенем очищення до 99,9 %. Такі фільтри розташовують в місцях надходження повітря до робочої зони. Для забезпечення необхідної чистоти повітря в системах «ламінальний вертикальний потік» і «ламінальний горизонтальний потік» у вітчизняній промисловості використовуються фільтрувальні установки, що складаються з фільтра попереднього очищення повітря і фільтра тонкого очищення. Для остаточного очищення від частинок і мікрофлори, що міститься в повітрі, використовуються фільтри типу «Like». В якості фільтруючого матеріалу використовуються ультратонкі волокна з перхлорвінілової смоли, які є гідрофобні і стійкі до хімічно агресивних середовищ. Дані волокна можуть використовуватися при температурах нижче 60 °С і відносній вологості повітря до 100%. В останні роки широко поширеними стали високоефективні повітряні фільтри HEPA, VERA, ULPA.

Відпрацьоване повітря також необхідно очищати за допомогою дрібносітчастих фільтрів, щоб захистити навколишнє середовище від потенційно шкідливих викидів виробничих потужностей.

Фільтри типу FEP з перегородками з фторполімерних фільтрів можна використовувати для очищення стисненого повітря та інших газів.

Для створення «ультрачистих» приміщень або окремих зон використовують спеціальні установки, які автономно подають ламінальний потік стерильного повітря. Українські промислові виробництва виготовляють 825 мільйонів «чистих» камер типу М 825.000.000, призначених для використання в умовах стерильного мікроклімату. Особливості конструкції камери дозволяють створювати з елементів камери блоки будь-якої довжини. Фільтрувальна комірка може бути розміщена над робочою зоною як незалежний пристрій для боротьби з пилом. Безпиловий мікроклімат всередині камери досягається безперервним вдуванням вертикального ламінарного потоку чистого повітря в робочий об'єм камери (Головей, & Гуляєв, 2017).

Миття пробок і ковпачків включає декілька операцій обробки, що чергуються між собою, з наступними видами обполіскування. МВ 42-51-21—93 і МВ 42-51-22—93 регламентують таку послідовність обробки: відмивання пробок від гумової чи пластмасової крихти, миття в розчині мийного засобу, кип'ятіння в розчинах натрію гідроксиду, соди кальцинованої або тринатрійфосфату, кип'ятіння в розчині кислоти хлороводневої. Після кожної операції проводиться обполіскування пробок проточною водопровідною водою, а потім водою очищеною. Завершальне обполіскування пробок та ковпачків проводять водою для ін'єкцій, профільтрованою через фільтр із порами розміром не більше 5,0 мкм.

Стерилізація пробок і ковпачків здійснюється насиченою парою у стерилізаторах із наступним висушуванням стерильним повітрям.

Підготовка закупорювальних засобів здійснюється з використанням промислових пральних машин і котлів для кип'ятіння типу РМ-ХVIII, РМ-ХІХ (ЗТО, м. Маріуполь), парових стерилізаторів вітчизняного і закордонного виробництва. Перевага надається автоматичним лініям і поліфункціональним апаратам, що поєднують усі операції миття і стерилізації, наприклад, виробництва фірми «Фарма-Клін» (Швейцарія) (Чуєшов, 2013).

Після підготовки чисті флакони надходять на лінію фасування продукту.

6.4. Обґрунтування вибору підготовки води

На фармацевтичному підприємстві використовують наступні види води: вода питна, з якої одержують воду високоочищену за допомогою методу подвійного зворотного осмосу спільно з іншими подібними підходами – ультрафільтрацією і електродеіонізацією; вода для ін'єкцій, яку також отримують із води питної або води очищеної реалізацією двоступеневої дистиляції чи за допомогою подвійного осмосу; а також вода очищена, яку отримують з води питної за допомогою процесів дистиляції, іонного обміну тощо (Поводзинський, & Шибецький, 2017).

Двоступенева дистиляція здійснюється в обладнанні, частини якого, що контактують з водою, виготовлені з нейтрального скла, кварцу або відповідного металу. Важливим є належне технічне обслуговування обладнання. Перший об'єм води, утвореної на початку операції, відкидається, а потім збирається дистиллят. Очищена, надчиста вода та вода для ін'єкцій є кінцевим результатом для забезпечення фармацевтичного виробництва космецевтики відповідно до нормативних вимог Державної Фармакопеї України (ДФУ). Необхідна попередня підготовка води, що включає комплекс технічних операцій (методів) для видалення наявних домішок з питної води, отриманої з природних вод: механічних часток, органічних речовин, мікроорганізмів, колоїдів, розчинених хімічних сполук тощо (Поводзинський, & Шибецький, 2017).

Питна вода повинна бути безпечною щодо інфекційних захворювань, хімічно нетоксичною, мати сприятливі органолептичні властивості. Безпека води визначається загальною чисельністю мікроорганізмів і кількістю коліформних бактерій (Анан'єва, 2023).

Іншим джерелом води для фармацевтичного використання є природна вода, яка містить багато хімічних домішок, тому потребує спеціального очищення. Основною вимогою до водопідготовки є використання в обладнанні джерельної води, яка не містить або містить мінімальну кількість домішок, здатних утворювати тверді шари (накип) під час дистиляції в обладнанні.

Спосіб очищення води здійснюється в залежності від виду домішок і її призначення. Механічні домішки зазвичай відокремлюють седиментацією з наступним зневодненням або фільтрацією через піщані фільтри.

Під час використання методу осадження іони кальцію і магнію перетворюються на важкорозчинні сполуки шляхом додавання до води розрахункових кількостей гідроксиду кальцію, гідроксиду натрію, кристалічного карбонату натрію та ін. Коли накипоутворювачі взаємодіють із

цими реагентами протягом кількох годин, утворюється осад, який видаляється шляхом відстоювання або фільтрації.

Метод іонного обміну заснований на обміні катіонів кальцію і магнію катіонами натрію або водню, що містяться в катіоніті — речовині, практично нерозчинній у воді. Вода, що проходить через катіонний фільтр, містить тільки солі натрію або мінеральні кислоти, які добре розчиняються і не можуть утворювати накип в дистилляторі. Дисоціація іонних груп у воді або розчині відбувається через іонну пару, іон, закріплений у полімері, і рухливий протиіон, який обмінюється з іоном того самого заряду (катіоном або аніоном) із розчину.

Порівнюючи із методами седиментації, даний метод має такі переваги: краще усувається жорсткість води; легка конструкція та обслуговування обладнання. Витрати на очищення води низькі, а водночас можна видалити й органічні речовини. Недоліком цього методу є те, що в м'якій воді підвищується лужність і збільшується кількість деяких солей.

Демінералізовану воду отримують з питної водопровідної води, але вона містить значну частку розчинених і зважених речовин, тому попередньо проводиться ретельний аналіз. Вода знесолюється, тобто позбавляється від небажаних катіонів та аніонів, за допомогою процесів іонного обміну та мембранного розділення.

Способи розділення через мембрану поділяють на: зворотний осмос, діаліз, електродіаліз, випаровування, ультрафільтрація. Такі методи ґрунтуються на використанні перегородок з вибірковою проникністю, що дає можливість отримувати воду, уникаючи фазових і хімічних перетворень.

Кожна серія відібраної води перевіряється на наявність відновних речовин, вугільного ангідриду, нітратів, нітритів, хлорних сполук, сульфатів, йонів кальцію та присутність важких металів. Також визначається значення водневого показника (діапазон від 5,0 до 6,8). З метою постійного оцінювання якості води використовується вимірювання значення питомої електропровідності.

Як вже було згадано, одержують очищену воду у більшості випадків шляхом дистиляції водопровідної або демінералізованої води у дистиляційних апаратах різноманітної будови (Анан'єва, 2023).

Для виробництва косметичних засобів використовуються наступні види води:

- неочищені: джерельна, мінеральна та термальна;
- очищені: дистильована, деіонізована, вода зі зворотнім осмосом.

Зупинимось на очищених видах води. Дистильовану воду очищають за допомогою процесу дистиляції, який передбачає кип'ятіння води та збір утвореної пари для видалення домішок і забруднень.

Деіонізована вода дозволяє видаляти мінеральні іони, такі як кальцій, натрій і магній, за допомогою процесу, який називається іонним обміном.

Вода зі зворотним осмосом є новітньою технологією, яка широко використовується в косметичній промисловості. Ця вода очищається шляхом пропускання через мембрану, яка відфільтровує домішки, що призводить до отримання високочистої води (Richaud, Rasasombat, Cuq, Galas, & Marti-Mestres, 2023).

Можна розрізнити чотири широкі категорії мембран з різною здатністю видаляти забруднення, що в основному пов'язано з розміром пор мембран:

- мікрофільтраційні мембрани (з розміром пор 0,1–5 мкм), які здатні затримувати водорості, бактерії, осади тощо;
- ультрафільтраційні мембрани (з розміром пор 0,01–0,1 мкм), що затримують білки та віруси;
- мембрани для нанофільтрації (з розміром пор 0,001–0,01 мкм), які затримують розчинені органічні речовини та двовалентні катіони;
- зворотньоосмотичні мембрани (з діапазоном розмірів пор 0,0001–0,001 мкм) мають пори або не є пористими, які працюють за принципом дифузії розчинника через мембрану (Rando, Sfameni, & Plutino, 2022).

Для отримання води очищеної, що буде використовуватись у виробництві сироватки з арбутином, обираємо метод зворотнього осмосу з використанням промислової системи зворотнього осмосу OSFIL-250 продуктивністю 250 л/год. Дана система має попередній фільтр механічний Organic BBL10BB Big Blue 10 розміром 180 x 180 x 310 мм та мембрану зворотнього осмосу CSM RE 4040-BE діаметром 102 мм.

6.5. Вибір технологічних стадій та операцій, обладнання

У доступній літературі представлено інформацію, що стосується дослідження виробництва сироватки для обличчя, що містить екстракт пажитника (Yeskar та ін., 2023). Тому для розробки технологічних етапів отримання сироватки з арбутином будемо брати за основу даний спосіб виробництва.

Згідно статті, карбопол диспергували у воді та залишали для гідратації протягом ночі; норма введення карбополу – 0,1%. Після цього додавали гліцерин (7%), Твін-80 (2%), вітамін Е (1%) та натрію бензоат (0,1%). Триетаноламін у кількості 0,3% додавали в останню чергу після додавання решти інгредієнтів для отримання бажаної консистенції (Yeskar та ін., 2023). У нашому випадку запропоновано норму введення арбутину 20%, решту складатиме вода очищена.

Якщо річне вироблення арбутину сягає кількості 46,9 кг/рік, а норма введення його до сироватки 20 %, то розрахуємо загальний обсяг сироватки, який необхідно виробити:

$$46,9 - 20\%$$

$$X - 100\%$$

$$X = 234,5 \text{ кг}$$

Таку кількість сироватки можна приготувати в реакторі об'ємом 300 л.

Отже, диспергування карбополу та змішування всіх компонентів будемо проводити у хімічному реакторі з нержавіючої сталі об'ємом 300 л, обладнаному мішалкою [<https://promvit.com.ua/universalnyj-reaktor-dlya-mlf-osnashhennyj-3-mya-verxnimi-meshalkami-donnym-gomogenizatorom-i-2-mya->

[ventilyami-nizhnego-spuska/](#)]. Після змішування всіх компонентів та досягання однорідності структури сироватку направляють на дозувальне обладнання для фасування. Для цієї мети підходить розливна машина моделі R-1A з діапазоном дозування 5-50 мл [<https://chumaki.in.ua/ua/p746479151-mashina-rozlivu.html>] .

Після фасування готовий продукт направляють на стадії маркування та пакування.

РОЗДІЛ 7. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ОТРИМАННЯ СИРОВАТКИ З АРБУТИНОМ

У таблиці 7.1 представлено специфікацію технологічного обладнання, що наведено на апаратурній схемі у графічній частині проекту.

Таблиця 7.1

Специфікація ділянки виділення та очищення арбутину

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
3-1	Збірник 50 л	1	Скляний хімічний двошаровий реактор на 50 літрів із сорочкою. Матеріал скла GG-17 (TC); матеріал рами нержавіюча сталь марки 304. Швидкість перемішування 0 - 600 об./хв. Розміри: 900x1156x1510 мм. Компанія: «Ukrchemgroup» (Україна) ¹
Н-2 Н-4 Н-6 Н-8 Н-11 Н-16	Насос	6	Поверхневий насос Speroni CAM 130. Продуктивність 3,6 м ³ /год. Матеріал корпусу – чугун. Компанія: «Speroni» (Італія) ²
Ц-3	Центрифуга	1	Промислова центрифуга об'ємом 20 л. Діаметр 450 мм. Фактор розділення 910 г/g. Матеріал – сталь 304SS. Компанія: «Zhengzhou Keda Machinery and Instrument Equipment Co., Ltd.» (Китай) ³
3-5	Збірник 200 л	1	Реактор 200 л AISI 304 лабораторний. Матеріал сталь AISI 304. D = 600 мм, H= 1180 мм. Швидкість роботи мішалки 28 об/хв. Компанія: «Wise Master» (Україна) ⁴
АК-7	Адсорбційна колона	1	Промислова адсорбційна колона, зовнішній діаметр 800 мм, висота 3500 мм. Ефективність очищення 99.99%. Компанія: «Botou Yite Environmental Protection Machinery Manufacturing Co., Ltd» (Китай) ⁵

НУХТ БТЕК 02.02.06 КР ПЗ

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата
Розроб.		Зьолко Т.В.		
Перевір.		Пенчук Ю.М.		
Консульт.				
Н. Контр.				
Затверд.		Стабніков В.П.		

РОЗДІЛ 7. СПЕЦИФІКАЦІЯ
ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ
ОТРИМАННЯ СИРОВАТКИ З
АРБУТИНОМ

Літ. Арк. Аркушів

82 105

Кафедра БТМ

Продовження табл. 7.1

ВВУ-9	Вакуум-випарна установка	1	Вакуум-випарна установка WIEGAND. Продуктивність – 8000 кг/год. Витрата пари при 8Атм: до 3400 кг/год. Витрата охолоджувальної води при 15°С: 60 м ³ /год. Компанія: «WIKА Alexander Wiegand SE & Со.КG» (Німеччина) ⁶
З-10	Збірник 20 л	1	Реактор об'ємом 20 л. Робочий тиск корпусу – 0,9 до +3,0. Матеріал – нержавіюча сталь AISI 316 L та AISI 304. Габаритні розміри 1085x600x1150мм. Компанія: «Промвіт» (Україна) ⁷
СС-12	Сублімаційна сушка	1	Промислова сублімаційна сушарка FDGY-10. Площа висушування 10 м ² . Продуктивність 100 кг/год. Робочий тиск 13,3-200 Па. Компанія: «Genyond Machinery Industrial Group» (Китай) ⁸
З-13	Збірник 500 л	1	Реактор об'ємом 5 л. Матеріал сталь AISI 316 L, AISI 304. Довжина 620 мм, ширина 410 мм, висота 840. Компанія: «Промвіт» (Україна) ⁹
Д-14	Дозатор ваговий	1	Дозатор ваговий «Норма – С». Продуктивність дозатора – доз/год 500. Межі дозування 5-50 кг. Похибка дозування 0,1-0,37%. Витрата стисненого повітря, під тиском 4 атм, не більше 1 м ³ /год. Компанія: «PromService» (Україна) ¹⁰
Р-15	Реактор 300 л	1	Реактор 300 літрів. У кришці змонтовані 3-і мішалки: якірна мішалка з розвиненою поверхнею перемішування та плаваючими скребками з тефлону з оборотами від 0 до 60 об/хв., 2-х ярусна турбінна мішалка з оборотом від 0 до 100 об/хв; 2-ярусна турбінна мішалка з оборотами від 0 до 600 об/хв. Є донний гомогенізатор зі швидкістю обертання ротора від 0 до 3000 об/хв. Корпус розрахований на надлишковий тиск від 0,1 до + 0,7 бара. Сорочки теплообмінні розраховані на надлишковий тиск + 3,0 бар. Матеріал виготовлення у контакті з продуктом – сталь AISI 316L. Матеріал сорочок та облицювання – сталь AISI 304. Компанія: «Промвіт» (Україна) ¹¹

MP-17	Машина розливу	1	Машина розливу R-1A. Продуктивність 10-25 шт/хв. Дозування 5-50 мл. Робочий тиск 4-6 бар. Компанія: «Чумаки в Китаї» (Китай) ¹²
-------	----------------	---	---

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

- 1 – <https://ukrchemgroup.com/ua/p1331234280-steklyannyj-himicheskij-reaktor.html>
- 2 – <https://speroni-shop.com.ua/poverhnostnyi-nasos-speroni-cam-130>
- 3 – https://www.alibaba.com/product-detail/Industrial-Basket-High-Speed-Centrifuge-Machine_62355787233.html?spm=a2700.7724857.0.0.2b3c3395wj7IBN
- 4 – <https://wise-master.com.ua/ua/p1000166496-reaktor-200-aisi.html>
- 5 – https://www.alibaba.com/product-detail/High-efficient-industrial-adsorption-column-price_60829469447.html
- 6 – https://rodnikgroup.all.biz/uk/vakuum-vyparna-ustanovka-wiegand-vigand-2000-4000-g723620?utm_currency=UAH&utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=shopping_ua_personal&utm_content=64837&gclid=CjwKCAjw_uGmBhBREiwAeOfsd-tJ2aKN-vbIh5Feye3tiSQBaKj8MGdbybBfMgy6b3FGW8zCnQwwxBoCaDsQAvD_BwE
- 7 – <https://promvit.com.ua/laboratornij-reaktor-robochim-ob%e2%80%b2yemom-20-l-rc-20-00-000-ps/>
- 8 – https://www.genyondmachine.com/industrial-freeze-dryer_p57338.html
- 9 – <https://promvit.com.ua/laboratornyj-reaktor-rp-5-dlya-mlf-kremy-mazi-geli-5-l/>
- 10 – <https://vkf.com.ua/product/dozator-vagovyj-norma-s/>
- 11 – <https://promvit.com.ua/universalnyj-reaktor-dlya-mlf-osnashhennyj-3-mya-verxnimi-meshalkami-donnym-gomogenizatorom-i-2-mya-ventilyami-nizhnego-spuska/>

РОЗДІЛ 8. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

Технологічна схема виділення та очищення арбутину, синтезованого *Xanthomonas maltophilia* ВТ-112 включає зберігання культуральної рідини, а також етапи виділення і очищення продукту космецевтичного спрямування.

ТП 1. Підготовка культуральної рідини

ТП 1.1. Зберігання культуральної рідини

Культуральну рідину зберігають у збірнику 3-1 при кімнатній температурі $25 \pm 1^\circ\text{C}$. При зберіганні періодично вмикають мішалку при швидкості обертів 20-50 об/хв. За допомогою насоса Н-2 культуральну рідину подають до центрифуги Ц-3 для відділення біомаси.

ТП 2. Відділення біомаси

ТП 2.1. Центрифугування культуральної рідини

До центрифуги Ц-3 надходить культуральна рідина від ТП 1.1. Здійснюють центрифугування за швидкості обертів 4200 об/хв протягом 20 хв. Отриманий супернатант надходить на етап виділення та очищення арбутину до адсорбційної колонки АК-7.

ТП 3. Адсорбційна хроматографія

ТП 3.1. Адсорбція 25% водним розчином етанолу

До адсорбційної колони АК-7 подають смолу S-8. Висота шару смоли становить 6,0 см. Насосом Н-4 подають 35,93 л супернатанту (від ТП 2.1) та 143,72 л елюенту (25% водного розчину етанолу) зі збірника 3-5 за допомогою насосу Н-6.

Здійснюють елюювання 4-ма об'ємами 25% розчину етанолу зі швидкістю потоку 0,5 л/год, з наступним збиранням всіх фракцій.

Пропущений крізь смолу S-8 розчин з адсорбційної колонки АК-7

					НУХТ БТЕК 02.02.06 КР ПЗ			
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		Зьолко Т.В.			РОЗДІЛ 8. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		Пенчук Ю.М.					85	105
<i>Консульт.</i>						Кафедра БТМ		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		Стабніков В.П.						

подають насосом Н-8 до вакуум-випарної установки ВВУ-9 для проведення операцій випарювання та концентрування.

ТП 4. Отримання концентрату

ТП 4.1. Концентрування

Елюат (розчин очищеного арбутину) від *ТП 3.1* за допомогою насоса Н-8 надходить на вакуум-випарну установку ВВУ-9. Процес випарювання здійснюють протягом 1,5-2 год за температури 40 °С до значення сталої вологості продукту 60 % від початкового об'єму розчину. Отриманий концентрат арбутину від вакуум-випарної установки ВВУ-9 надходить до збірника З-10.

ТП 5. Вакуумне висушування

ТП 5.1. Сублімаційне висушування

Концентрат арбутину вологістю 60% зі збірника З-10 за допомогою насоса Н-11 подають на сублімаційну сушку СС-12 на стадію заморожування та вакуумного висушування. На етапі заморожування температура становить - 40°С, від початку висушування температуру встановлюють на рівні -60°С до завершення процесу висушування. Отримують порошок арбутину вологістю близько 10%. Продукт вручну вивантажують у підкатну ємність та переносять до збірника З-13 об'ємом 5 л до стадій фасування, пакування та маркування.

ТП 6. Отримання сироватки з арбутином

ТП 6.1. Підготовка води очищеної

Питну воду подають через систему зворотнього осмосу продуктивністю 250 л/год. Спочатку вода проходить через механічний фільтр, а потім через зворотньоосмотичну мембрану з розміром пор 0,001 мкм. Отриману воду очищену подають на стадії *ТП 6.2*, *ТП 6.3*.

ТП 6.2. Диспергування карбополу

За допомогою вагового дозатора Д-21 зважують 0,23 кг карбополу, отриманого зі складу. Наважку направляють до реактора Р-22. Подають 50 л води очищеної від *ТП 6.1*. Вмикають донний гомогенізатор, яким обладнаний

реактор Р-22, та в режимі 100 об/хв здійснюють гомогенізацію суспензії карбополу. Отриману масу залишають на 12 годин.

ТП 6.3. Отримання сироватки

За допомогою вагового дозатора Д-21 зважують 16,4 кг гліцерину, 4,7 кг Твін-80, 2,3 кг вітаміну Е, 0,23 кг натрію бензоату та 46,9 кг арбутину від *ТП 5.1*. Наважки подають по черзі до реактора Р-22 при перемішуванні 100 об/хв. Після цього додають 0,7 кг триетаноламіну та 113 л води очищеної від *ТП 6.1*. Продовжують перемішування у режимі 100-200 об/хв. Отриману сироватку насосом Н-23 направляють на стадію фасування *ТП 6.4*.

ТП 6.4. Фасування сироватки у флакони

Із сектору підготовки флаконів одержують чисті флакони об'ємом 30 мл та кришки-крапельниці, від *ТП 6.3* надходить готова сироватка. Наповнення флаконів проводять з використанням машини розливу R-1A по 30 мл, контролюючи точність дозування машини. На флакони наносять етикетку, проводять маркування та пакування у пачки і коробки.

**РОЗДІЛ 9. ОПИС КОСМЕЦЕВТИЧНОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД
(ПРОЕКТ АНД)**

Склад відбілюючої сироватки з арбутином: вода очищена, карбопол, гліцерин, вітамін Е, арбутин, натрію бензоат, триетаноламін, твін-80. Дана сироватка містить близько 74% органічних інгредієнтів. Властивості інгредієнтів вписані у табл. 9.1.

Таблиця 9.1.

**Характеристика властивостей інгредієнтів відбілюючої сироватки з
арбутином**

Назва інгредієнта	Властивості
Вода очищена	Розчинник
Карбопол	Гелеутворювач
Гліцерин	Пом'якшувальна, зволожувальна дія, формує консистенцію засобу
Вітамін Е	Антиоксидант, видалення пігментних плям
Арбутин	Відбілююча та сонцезахисна дія
Натрію бензоат	Консервант
Триетаноламін	Стабілізатор рН
Твін-80	Емульгатор, стабілізатор

Застосування сироватки: гіперпігментація шкіри обличчя.

Контроль якості сироватки проводиться за ДСТУ 5009:2008 за наступними показниками:

1) Зовнішній вигляд та колір визначається органолептично при денному світлі або у відбитому світлі електричної лампи після кількох перевертань флакону. Сироватка з арбутином має переглядом флакону при

					НУХТ БТЕК 02.02.06 КР ПЗ				
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>					
<i>Розроб.</i>		<i>Зьолко Т.В.</i>			РОЗДІЛ 9. ОПИС КОСМЕЦЕВТИЧНОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД (ПРОЕКТ АНД)	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>	
<i>Перевір.</i>		<i>Пенчук Ю.М.</i>					88	105	
<i>Консульт.</i>						Кафедра БТМ			
<i>Н. Контр.</i>									
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>							

проходженні через нього сонячного світла. Виявлено, що сироватака являє собою безбарвну прозору однорідну рідину без осаду.

2) Запах парфумерно-косметичних засобів рідкої консистенції (крім шампунів) визначають органолептичним методом із використанням смужки цупкого паперу розміром 10 мм x 160 мм, змоченого на 1/6 довжини випробовуваною рідиною. Температура досліджуваного засобу має становити 40 - 45 °С. Сироватка з арбутином не має різкого чи характерного запаху.

3) Визначення рН провидиться за допомогою цифрового рН-метра. Водневий показник сироватки має бути від 4 до 6. Оптимальне значення 5,5. рН-метр відкалібровують за допомогою стандартного буферного розчину. Приблизно 1 мл сироватки зважують і розчиняють у 50,0 мл дистильованої води та вимірюють її рН.

4) Однорідність визначається методом нанесення певної кількості сироватки на прозоре скло. Засіб повинен рівномірно розподілитися на поверхні скла (Budiasih та ін., 2018).

5) В'язкість є важливим параметром при оцінці якості сироватки. В'язкість включає визначення здатності до розтікання, текучості продукту. На даний параметр впливають наступні фактори: зміна температури, умов виробництва, якість сировини. В'язкість сироватки визначають за допомогою віскозиметра Брукфілда при 100 об/хв, використовуючи веретеноподібну модель S. 64.5 мл сироватки набирають у склянку, занурюють у неї шпindel приблизно на 5 хвилин, а потім знімають показники (Thorat, Bhadane, Wagh, Gaikwad, & Chhajed, 2023).

Сироватка з арбутином не повинна бути густою.

6) Мікробне дослідження продукту. Косметичні засоби не обов'язково повинні бути стерильними, але їх необхідно належним чином зберігати, щоб мінімізувати мікробне забруднення.

Дослідження КЗ на мікробне забруднення починається зі стерилізації робочої зони дезінфікуючим засобом. Необхідно здійснити розведення

продукту для цього 1 г/мл засобу поміщають піпеткою в першу пробірку, ретельно струсивши її, потім 1 мл із цієї пробірки поміщають у другу пробірку з наступним розведенням.

Визначення загальної кількості бактерій починається з відважування точної кількості поживного агару з додаванням 50 мл води в конічну колбу автоклава. Автоклавування проходить при 121 °С протягом 15 хв. Коли температура знизиться до 45 °С, слід додати 1 мл розчину сироватки в автоклавну чашку Петрі та 20 мл поживного агаризованого середовища з наступним перемішуванням за годинниковою стрілкою та проти годинникової стрілки. Інкубування має проходити протягом 48 годин при 37 °С.

Визначення загальної кількості грибів починається з відбору за допомогою піпетки 1 мл попередньо обробленого зразка сироватки в п'ять стерильних чашок Петрі. В чашку необхідно додати від 15 до 20 мл розплавленого хлорамфеніколового агару з наступним перемішуванням вмісту чашки. Після застигання вмісту чашки Петрі проводять інкубування при 23+2 °С протягом трьох днів (Thorat, Bhadane, Wagh, Gaikwad, & Chhajed, 2023).

Загальна життєздатна кількість аеробних мезофільних мікроорганізмів не повинна перевищувати 10^3 КУО/г або 10^3 КУО/мл продукту. *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* і *Candida albicans* вважаються основними потенційними патогенами в косметичних продуктах. Ці специфічні потенційні збудники не повинні виявлятися в 1 г або 1 мл косметичного продукту (Halla та ін., 2018).

7) Визначення термостабільності космецевтичної сироватки проводять при високій, низькій та кімнатній температурі. Спочатку готовий КЗ поміщають у водяну баню на дві години при температурі 50-60°C. На другому етапі визначення термостабільності сироватку ставлять у холодильник на дві години. Останнім етапом є зберігання при кімнатній

температурі упродовж доби. Позитивним результатом досліджень є відсутність розшарування сироватки і утворення осаду.

8) Кількісне визначення арбутину в космецевтичному засобі Repert та ін. здійснювали за допомогою хроматографії гідрофільної взаємодії. Перед аналізом біополімери, які часто присутні в косметиці, були ефективно видалені шляхом осадження ацетонітрилом. Для розділення Repert та ін. використовували колонку Cuslobond I 2000 5 мкм 250 × 4,6 мм як нерухому фазу, а ацетонітрил/вода 92/8 (об./об.) використовувався як елюент при швидкості потоку 0,8 мл хв⁻¹. Для кількісного визначення вчenni застосовували УФ-детектор, що працює при 284 нм (Repert, Matthes, Rozhon, 2022).

9) Пакування – скляний матовий флаконом Сідней об'ємом 30 мл з піпеткою (кришкою-крапельницею).

10) Маркування споживчої та транспортної тари повинне відповідати вимогам ГОСТ 27429. Нанесення маніпуляційних знаків проводиться згідно з ГОСТ 14192.

Категорії якості КЗ повинні чітко маркуватися на етикетці відповідно до встановлених норм за ДСТУ 5010.

11) Гарантія збереження – 6 місяців.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Анан'єва, В. В. (2023). Конспект лекцій з курсу " Загальна технологія фармацевтичних виробництв" для студентів спеціальності 161 «Хімічні технології та інженерія» освітньої програми «Технології органічних речовин, харчових добавок і косметичних засобів – Харків: НТУ «ХП», 2023. – 160 с.
2. Баула, О. П., Бессарабов, В. І., Тарасенко, Г. В. (2015). Підходи до проведення досліджень полімерних матеріалів первинної упаковки на етапі фармацевтичної розробки генеричних лікарських засобів. *Перспективні полімерні матеріали та технології*.
3. Головей, О. П., & Гуляєв, В. М. (2017). Асептика біотехнологічних виробництв. Конспект лекцій з дисципліни «Асептика біотехнологічних виробництв» освітньо-професійної програми другого (магістерського) рівня вищої освіти зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» усіх форм навчання – Кам'янське, ДДТУ, 2017 р. – 140 с.
4. Гуріна, Т. М., Висеканцев, І. П., & Устиченко, В. Д. (2022). Основи сублімаційної сушки: *Методичні рекомендації для самостійної роботи аспірантів 2 курсу (галузь знань 09 Біологія, спеціальність 091 Біологія) з дисципліни «Технології низькотемпературного консервування»*.
5. Дедишина Л. Космецевтика в аптеці: престижно та прибутково / Л. Дедишина // Фармацевт Практик. – 2015. - № 12. – С.28-19. – Режим доступу: file:///C:/Users/Admin/Downloads/farmpr_2015_12_17-1.pdf
6. 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. 1. - 1128 с.
7. Карлаш Ю.В., & Красінько В.О. (2022). Основи проектування біотехнологічних виробництв. Навч. посібник. –К.:НУХТ, 2022. –373 с.

8. Коваленко С.М. (2020). Основні аспекти забезпечення якості сучасних дезінфекційних засобів. Управління якістю у фармації: матеріали XIV наук. – практ. конф. з міжнар. участю.– Х. : НФаУ, 2020. – С. 88-89.
9. Лебединець, В. О., Казакова, І. С., Казакова, В. С. (2018). Сучасні підходи до стандартизації лікарських косметичних засобів в Україні.
10. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2016 Лікарські засоби. Належна виробнича практика, 2020.
11. Поводзинський, В. М., & Шибецький, В. Ю. (2017). Устаткування асептичних і неасептичних виробництв лікарських засобів. Конспект лекцій для студентів спеціальності 133 «Галузеве машинобудування» спеціалізація «Обладнання фармацевтичних та біотехнологічних виробництв»: КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2017. – 251 с.
12. Тарасенко, Г. В., Пальчевська, Т. А., Куришко, Г. Г., Григоренко, А. О., & Кузьміна, Г. І. (2012). Фармакогностичні методи аналізу. *Навч. пос. для студ. напряму підг. 6.120201 «Фармація» спеціальності «Технологія фармацевтичних препаратів», 2012 – 260 с.*
13. Чебан Л.М. (2017). Загальна біотехнологія: навчально-методичний посібник. Модуль 1. – Чернівці: Чернівецький нац.ун-т. – 116 с.
14. Чебан Л.М. Біологія продуцентів БАР. Навчально-методичний посібник. Чернівці: Чернівецький національний університет, 2021. – 104 с.
15. Чуєшов, В. І. (2013). Технологія ліків промислового виробництва. *Х.: Вид-во НФаУ–2003, 720.*
16. Юрків, М. Т., Куриленко, О. О., Васишин, Р. В., Дмитрук, К. В., Мартинюк, Н. Б., Скороход, В. В., & Сибірний, А. А. (2015). Розробка технології отримання препаратів глутатіону на основі сконструйованих активних суперпродуцентівцього трипептиду у дріжджів. *Наука та інновації.*
17. Alpha-Arbutin [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://www.simagchem.com/products_232/Plant%20extract/Alpha-Arbutin/products.html.

18. Alves, A., Sousa, E., Kijjoo, A., & Pinto, M. (2020). Marine-derived compounds with potential use as cosmeceuticals and nutricosmetics. *Molecules*, 25(11), 2536. doi: 10.3390/molecules25112536.
19. Antonopoulou, I., Varriale, S., Topakas, E., Rova, U., Christakopoulos, P., & Faraco, V. (2016). Enzymatic synthesis of bioactive compounds with high potential for cosmeceutical application. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 6519-6543. doi: 10.1007/s00253.
20. Aranaz, I., Acosta, N., Civera, C., Elorza, B., Mingo, J., Castro, C., ... & Heras Caballero, A. (2018). Cosmetics and cosmeceutical applications of chitin, chitosan and their derivatives. *Polymers*, 10(2), 213. doi: 10.3390/polym10020213.
21. Arbutin [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/440936#section=Solubility%D0%90%D1%80%D0%B1%D1%83%D1%82%D0%B8%D0%BD>.
22. Arbutin Stability in pH, Heat and Cosmetic Formulation (2021) [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.plamed.cn/arbutin-stability-in-ph-heat-and-cosmetic-formulation/>.
23. Boo, Y. C. (2021). Arbutin as a skin depigmenting agent with antimelanogenic and antioxidant properties. *Antioxidants*, 10(7), 1129. doi: 10.3390/antiox10071129.
24. Boo, Y. C. (2022). Ascorbic Acid (Vitamin C) as a Cosmeceutical to Increase Dermal Collagen for Skin Antiaging Purposes: Emerging Combination Therapies. *Antioxidants*, 11(9), 1663. doi: 10.3390/antiox11091663.
25. Bouzroud, S., El Maaiden, E., Sobeh, M., Merghoub, N., Boukcim, H., Kouisni, L., & El Kharrassi, Y. (2023). Biotechnological Approaches to Producing Natural Antioxidants: Anti-Ageing and Skin Longevity Prospects. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2), 1397. doi: 10.3390/ijms24021397.
26. Bravo, B., Correia, P., Gonçalves Junior, J. E., Sant'Anna, B., & Kerob, D. (2022). Benefits of topical hyaluronic acid for skin quality and signs of

skin aging: From literature review to clinical evidence. *Dermatologic Therapy*, e15903. doi: 10.1111/dth.15903.

27. Budiasih, S., Masyitah, I., Jiyauddin, K., Kaleemullah, M., Samer, A. D., Fadli, A. M., Yusuf, Y. (2018). Formulation and characterization of cosmetic serum containing argan oil as moisturizing agent. In *Proceedings of the BROMO Conference, Surabaya, Indonesia* (pp. 11-12). doi: 10.5220/0009846300010000.

28. Caon, I., Parnigoni, A., Viola, M., Karousou, E., Passi, A., & Vigetti, D. (2021). Cell energy metabolism and hyaluronan synthesis. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 69(1), 35-47. doi: 10.1369/0022155420929772.

29. Cheng, F., Gong, Q., Yu, H., & Stephanopoulos, G. (2016). High-titer biosynthesis of hyaluronic acid by recombinant *Corynebacterium glutamicum*. *Biotechnology journal*, 11(4), 574-584. doi: 10.1002/biot.201500404.

30. Choi, B. H., Hwang, H. J., Lee, J. E., Oh, S. H., Hwang, J. S., Lee, B. Y., & Lee, P. C. (2020). Microbial production of retinyl palmitate and its application as a cosmeceutical. *Antioxidants*, 9(11), 1130. doi: 10.3390/antiox9111130.

31. CN104558066A. Extraction method for arbutin. Gao Junli. 29.04.2015. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://patents.google.com/patent/CN104558066A/en>

32. Corinaldesi, C., Barone, G., Marcellini, F., Dell'Anno, A., & Danovaro, R. (2017). Marine microbial-derived molecules and their potential use in cosmeceutical and cosmetic products. *Marine Drugs*, 15(4), 118. doi: 10.3390/md15040118.

33. de Oliveira, J. D., Carvalho, L. S., Gomes, A. M. V., Queiroz, L. R., Magalhães, B. S., & Parachin, N. S. (2016). Genetic basis for hyper production of hyaluronic acid in natural and engineered microorganisms. *Microbial cell factories*, 15(1), 1-19. doi: 10.1186/s12934-016-0517-4.

34. El-Naggar, N. E. A., & Saber, W. I. (2022). Natural melanin: current trends, and future approaches, with especial reference to microbial source. *Polymers*, 14(7), 1339. doi: 10.3390/polym14071339.

35. Halla, N., Fernandes, I. P., Heleno, S. A., Costa, P., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K., Barreiro, M. F. (2018). Cosmetics preservation: a review on present strategies. *Molecules*, 23(7), 1571. doi: 10.3390/molecules23071571.
36. Janiewski, P., Jakubowska, K., Sobiecka, E. (2018). The packaging as an important part of the cosmetics process production. *Biotechnology and Food Science*, 82(2), 97-111.
37. Jesumani, V., Du, H., Aslam, M., Pei, P., & Huang, N. (2019). Potential use of seaweed bioactive compounds in skincare—A review. *Marine drugs*, 17(12), 688. doi: 10.3390/md17120688.
38. Jin, P., Kang, Z., Yuan, P., Du, G., & Chen, J. (2016). Production of specific-molecular-weight hyaluronan by metabolically engineered *Bacillus subtilis* 168. *Metabolic engineering*, 35, 21-30. doi: 10.1016/j.ymben.2016.01.008.
39. Juncan, A. M., Moisă, D. G., Santini, A., Morgovan, C., Rus, L. L., Vonica-Țincu, A. L., & Loghin, F. (2021). Advantages of hyaluronic acid and its combination with other bioactive ingredients in cosmeceuticals. *Molecules*, 26(15), 4429. doi: 10.3390/molecules26154429.
40. Kalasariya, H. S., Yadav, V. K., Yadav, K. K., Tirth, V., Algahtani, A., Islam, S., ... & Jeon, B. H. (2021). Seaweed-based molecules and their potential biological activities: An eco-sustainable cosmetics. *Molecules*, 26(17), 5313. doi: 10.3390/molecules26175313.
41. Kasanah, N., Ulfah, M., Imania, O., Hanifah, A. N., & Marjan, M. I. D. (2022). Rhodophyta as Potential Sources of Photoprotectants, Antiphotaging Compounds, and Hydrogels for Cosmeceutical Application. *Molecules*, 27(22), 7788. doi: 10.3390/molecules27227788.
42. Kot, A. M., Błażej, S., Kurcz, A., Gientka, I., & Kieliszek, M. (2016). *Rhodotorula glutinis*—potential source of lipids, carotenoids, and enzymes for use in industries. *Applied microbiology and biotechnology*, 100, 6103-6117. doi: 10.1007/s00253-016-7611-8.

43. Lee, Y., Kumar, S., Kim, S. H., Seong, K. Y., Lee, H., Kim, C., & Yang, S. Y. (2020). Odorless glutathione microneedle patches for skin whitening. *Pharmaceutics*, *12*(2), 100. doi: 10.3390/pharmaceutics12020100.
44. Liu, C., Zhang, P., Liu, L., Xu, T., Tan, T., Wang, F., & Deng, L. (2013). Isolation of α -arbutin from *Xanthomonas* CGMCC 1243 fermentation broth by macroporous resin adsorption chromatography. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, *925*, 104–109. doi: 10.1016/j.jchromb.2013.01.013.
45. Liu, C., Zhang, P., Zhang, S., Xu, T., Wang, F., & Deng, L. (2014). Feeding strategies for the enhanced production of α -arbutin in the fed-batch fermentation of *Xanthomonas maltophilia* BT-112. *Bioprocess and biosystems engineering*, *37*, 325-329. doi: 10.1007/s00449-013-0980-9.
46. Liu, J. K. (2022). Natural products in cosmetics. *Natural Products and Bioprospecting*, *12*(1), 40. doi: 10.1007/s13659-022-00363-y.
47. Liu, J., Wang, Y., Li, Z., Ren, Y., Zhao, Y., & Zhao, G. (2018). Efficient production of high-molecular-weight hyaluronic acid with a two-stage fermentation. *RSC advances*, *8*(63), 36167-36171. doi: 10.1039/C8RA07349J.
48. Lohani, A., Verma, A., Joshi, H., Yadav, N., & Karki, N. (2014). Nanotechnology-based cosmeceuticals. *International Scholarly Research Notices*, *2014*. doi: 10.1155/2014/843687.
49. Martinez, L. M., Martinez, A., & Gosset, G. (2019). Production of melanins with recombinant microorganisms. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, *7*, 285. doi: 10.3389/fbioe.2019.00285.
50. Mata-Gomez, L. C., Montanez, J. C., Mendez-Zavala, A., & Aguilar, C. N. (2014). Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview. *Microbial cell factories*, *13*(1), 1-11. doi: 10.1186/1475-2859-13-12.
51. Muntean, A. C., Juncan, A. M., Moisa, D. G., Vonica, A. L., Rus, L. L., Morgovan, C., ... Stanila, A. (2019). Primary packaging and stability evaluation of a serum used for the periorbital area of the sensitive eye. *Mater. Plast*, *56*. doi: 10.37358/MP.19.2.5186.

52. Narda, M., Trullas, C., Brown, A., Piquero-Casals, J., Granger, C., & Fabbrocini, G. (2021). Glycolic acid adjusted to pH 4 stimulates collagen production and epidermal renewal without affecting levels of proinflammatory TNF-alpha in human skin explants. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 20(2), 513-521. doi: 10.1111/jocd.13570.
53. Pandey, A., Jatana, G. K., & Sonthalia, S. (2019). Cosmeceuticals. In Stat Pearls; StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, USA, 2021 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544223/>
54. Peyrat, L. A., Tsafantakis, N., Georgousaki, K., Ouazzani, J., Genilloud, O., Trougakos, I. P., & Fokialakis, N. (2019). Terrestrial microorganisms: cell factories of bioactive molecules with skin protecting applications. *Molecules*, 24(9), 1836. doi:10.3390/molecules24091836.
55. Polouliakh, N., Ludwig, V., Meguro, A., Kawagoe, T., Heeb, O., & Mizuki, N. (2020). Alpha-arbutin promotes wound healing by lowering ROS and upregulating insulin/IGF-1 pathway in human dermal fibroblast. *Frontiers in physiology*, 11, 586843. doi:10.3389/fphys.2020.586843.
56. Rando, G., Sfameni, S., & Plutino, M. R. (2022). Development of Functional Hybrid Polymers and Gel Materials for Sustainable Membrane-Based Water Treatment Technology: How to Combine Greener and Cleaner Approaches. *Gels*, 9(1), 9. doi:10.3390/gels9010009.
57. Repert, S., Matthes, S., Rozhon, W. (2022). Quantification of arbutin in cosmetics, drugs and food supplements by hydrophilic-interaction chromatography. *Molecules*, 27(17), 5673. doi:10.3390/molecules27175673.
58. Richaud, M., Rasasombat, S., Cuq, P., Galas, S., & Marti-Mestres, G. (2023). Water in cosmetics and *Caenorhabditis elegans* as an alternative model for lifespan assessment. *International Journal of Cosmetic Science*. doi: 10.1111/ics.12912. doi: 10.1111/ics.12912.
59. Rodriguez-Marquez, C. D., Arteaga-Marin, S., Rivas-Sanchez, A., Autrique-Hernandez, R., & Castro-Munoz, R. (2022). A Review on Current

Strategies for Extraction and Purification of Hyaluronic Acid. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(11), 6038. doi: 10.3390/ijms23116038.

60. Saeedi, M., Khezri, K., Seyed Zakaryaei, A., & Mohammadamini, H. (2021). A comprehensive review of the therapeutic potential of α -arbutin. *Phytotherapy Research*, 35(8), 4136-4154. doi: 10.1002/ptr.7076.

61. Salusjarvi, L., Havukainen, S., Koivistoinen, O., & Toivari, M. (2019). Biotechnological production of glycolic acid and ethylene glycol: current state and perspectives. *Applied microbiology and biotechnology*, 103, 2525-2535. doi: 10.1007/s00253-019-09640-2.

62. Santiesteban-Romero, B., Martínez-Ruiz, M., Sosa-Hernández, J. E., Parra-Saldívar, R., & Iqbal, H. M. (2022). Microalgae Photo-Protectants and Related Bio-Carriers Loaded with Bioactive Entities for Skin Applications—An Insight of Microalgae Biotechnology. *Marine Drugs*, 20(8), 487. doi: 10.3390/md20080487.

63. Sarkar, R., Arora, P., & Garg, K. V. (2013). Cosmeceuticals for hyperpigmentation: what is available? *Journal of cutaneous and aesthetic surgery*, 6(1), 4. doi: 10.4103/0974-2077.110089. doi: 10.4103/0974-2077.110089.

64. Serra, M., Casas, A., Toubarro, D., Barros, A. N., & Teixeira, J. A. (2023). Microbial hyaluronic acid production: a review. *Molecules*, 28(5), 2084. doi: 10.3390/molecules28052084.

65. Shang, Y., Wei, W., Zhang, P., & Ye, B. C. (2020). Engineering *Yarrowia lipolytica* for enhanced production of arbutin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(5), 1364-1372. doi: 10.1021/acs.jafc.9b07151.

66. Shikina, E. V., Kovalevsky, R. A., Shirkovskaya, A. I., & Toukach, P. V. (2022). Prospective bacterial and fungal sources of hyaluronic acid: A review. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. doi: 10.1016/j.csbj.2022.11.013.

67. Siahaan, E. A., Pangestuti, R., Shin, K. H., & Kim, S. K. (2022). Potential Cosmetic Active Ingredients Derived from Marine By-Products. *Marine Drugs*, 20(12), 734. doi: 10.3390/md20120734.

68. Sonthalia, S., Daulatabad, D., & Sarkar, R. (2016). Glutathione as a skin whitening agent: facts, myths, evidence and controversies. *Indian journal of dermatology, venereology and leprology*, *82*, 262. doi: 10.4103/0378-6323.179088.
69. Sosa-Hernandez, J. E., Escobedo-Avellaneda, Z., Iqbal, H. M., & Welti-Chanes, J. (2018). State-of-the-art extraction methodologies for bioactive compounds from algal biome to meet bio-economy challenges and opportunities. *Molecules*, *23*(11), 2953. doi: 10.3390/molecules23112953.
70. Sze, J. H., Brownlie, J. C., & Love, C. A. (2016). Biotechnological production of hyaluronic acid: a mini review. *3 Biotech*, *6*, 1-9. doi: 10.1007/s13205-016-0379-9.
71. Tang, L., Wang, W., Zhou, W., Cheng, K., Yang, Y., Liu, M., ... & Wang, W. (2015). Three-pathway combination for glutathione biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial cell factories*, *14*, 1-12. doi: 10.1186/s12934-015-0327-0.
72. Tang, S. C., & Yang, J. H. (2018). Dual effects of alpha-hydroxy acids on the skin. *Molecules*, *23*(4), 863. doi: 10.3390/molecules23040863.
73. Taofiq, O., Heleno, S. A., Calhelha, R. C., Alves, M. J., Barros, L., Barreiro, M. F., ... & Ferreira, I. C. (2016). Development of mushroom-based cosmeceutical formulations with anti-inflammatory, anti-tyrosinase, antioxidant, and antibacterial properties. *Molecules*, *21*(10), 1372. doi: 10.3390/molecules21101372.
74. Teo, C. H., & Lai, Z. W. (2019). Cloning and expression of hyaluronan synthase (hasA) in recombinant *Escherichia coli* BL21 and its hyaluronic acid production in shake flask culture. *Malaysian Journal of Microbiology*, *15*(7), 575-582. doi: 10.21161/mjm.190444.
75. Thiyagarasaiyar, K., Goh, B. H., Jeon, Y. J., & Yow, Y. Y. (2020). Algae metabolites in cosmeceutical: An overview of current applications and challenges. *Marine drugs*, *18*(6), 323. doi: 10.3390/md18060323.
76. Thorat, P. S., Bhadane, H. B., Wagh, S. S., Gaikwad, M. S., & Chhajed, S. S. (2023). GENERAL REVIEW ON FACE SERUM.

77. Tran, D., Townley, J. P., Barnes, T. M., & Greive, K. A. (2014). An antiaging skin care system containing alpha hydroxy acids and vitamins improves the biomechanical parameters of facial skin. *Clinical, cosmetic and investigational dermatology*, 9-17. doi: 10.2147/CCID.S75439.
78. Ucm, R., Aem, M., Lhb, Z., Kumar, V., Taherzadeh, M. J., Garlapati, V. K., & Chandel, A. K. (2022). Comprehensive review on biotechnological production of hyaluronic acid: status, innovation, market and applications. *Bioengineered*, 13(4), 9645-9661. doi: 10.1080/21655979.2022.2057760.
79. Vazquez, J. A., Rodriguez-Amado, I., Montemayor, M. I., Fraguas, J., del Pilar Gonzalez, M., & Murado, M. A. (2013). Chondroitin sulfate, hyaluronic acid and chitin/chitosan production using marine waste sources: Characteristics, applications and eco-friendly processes: A review. *Marine drugs*, 11(3), 747-774. doi: 10.3390/md11030747.
80. Venkatesan, J., Anil, S., Kim, S. K., & Shim, M. S. (2017). Marine fish proteins and peptides for cosmeceuticals: A review. *Marine drugs*, 15(5), 143. doi: 10.3390/md15050143.
81. Wang, S., Fu, C., Bilal, M., Hu, H., Wang, W., & Zhang, X. (2018). Enhanced biosynthesis of arbutin by engineering shikimate pathway in *Pseudomonas chlororaphis* P3. *Microbial cell factories*, 17(1), 1-14. doi: 10.1186/s12934-018-1022-8.
82. Wibowo, J. T., Kellermann, M. Y., Petersen, L. E., Alfiansah, Y. R., Lattyak, C., & Schupp, P. J. (2022). Characterization of an insoluble and soluble form of melanin produced by *Streptomyces cavourensis* SV 21, a sea cucumber associated bacterium. *Marine Drugs*, 20(1), 54. doi: 10.3390/md20010054.
83. Yeskar, H., Makde, P., Tiware, S. A., Shirbhate, T. M., Thakre, S. V., Darne, C. S.,..., Baheti, J. R. (2023). Formulation and evaluation of a face serum containing fenugreek extract. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, 12(6), 799–804. doi.org/10.18203/2319-2003.

84. Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine drugs*, 13(3), 1133-1174. doi: 10.3390/md13031133.
85. Zhu, L., Jiang, D., Zhou, Y., Lu, Y., Fan, Y., & Chen, X. (2019). Batch-feeding whole-cell catalytic synthesis of α -arbutin by amylosucrase from *Xanthomonas campestris*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 46(6), 759-767. doi: 10.1007/s10295-019-02143-z.
86. Zhu, L., Xu, M., Lu, C., Chen, L., Xu, A., Fang, J., ... & Chen, X. (2019). Optimization of whole-cell biotransformation for scale-up production of α -arbutin from hydroquinone by the use of recombinant *Escherichia coli*. *AMB Express*, 9, 1-9. doi: 10.1186/s13568-019-0820-7.

ДОДАТКИ

Матеріали 89 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів "Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті", 3-7 квітня 2023 р. – К.: НУХТ, 2023 р. – Ч.1. – 420 с.

Вплив несприятливих факторів середовища на біосинтез β -каротину

Тетяна Зьолко, Юрій Пенчук

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

Вступ. Каротиноїди широко застосовуються в медицині, фармації, харчовій промисловості, косметичці тощо. *Dunaliella salina* – фотосинтезуюча мікроводорість, що здатна продукувати β -каротин – потужний антиоксидант, який захищає шкіру від сонячних променів та інших пошкоджуючих факторів.

Матеріали і методи. Проведено аналіз наукових статей, що стосуються впливу умов культивування *D. salina* на біосинтезу β -каротину з наступною систематизацією інформації.

Результати. Є дослідження щодо впливу стресових факторів на біосинтез β -каротину, що міститься у мікроводорості [1]. Біосинтез каротиноїдів - це складний процес, який активується умовами, що блокують поділ клітин, а саме: світлом, високою температурою, низькими концентраціями азоту тощо [2]. Виявлено, що максимальний вміст β -каротину (5,18%) у клітинах *D. salina* спостерігався в умовах високого світла, 3,55 % - під час азотного голодування та 2,04 % - під час високої солоності. При контрольованих умовах культивування вміст β -каротину становив 1,38%.

Висока освітленість є головним фактором надлишкового виробництва β -каротину у порівнянні з азотистим виснаженням. Проте, надмірний

біосинтез данного каротиноїду, що досягається шляхом азотистого голодування є більш економічним, оскільки за даних умов використовується у 20 разів менше енергії світла, ніж при застосуванні високого рівня освітленості.

Крім того було помічено взаємозв'язок між накопиченням активних форм кисню, що утворюються в умовах стресу в *D. salina*, та збільшенням синтезованого β -каротину. Додавання 2,0 мМ H₂O₂ під час культивування мікроводорості супроводжувалося підвищенням вмістом β -каротину до 6,7 разів. Вихід каротиноїду був у 3,9 разів вищим, ніж за оптимальних умов культивування.

У науковій статті зазначено, що культивування *D. salina* в умовах стресу та при наявності активних форм кисню супроводжувалося зниженням фотосинтезуючої здатності мікроводорості. В ході досліджень було з'ясовано, що гальмування фотосинтезу відбувається за рахунок перекисного окислення ліпідів у тилакоїдах *D. salina*. Під час вивчення даного питання було виявлено, що кількість ключових генів мікроводорості, задіяних у процесі фотосинтезу, зменшувалася у присутності активних форм кисню, а саме H₂O₂ [1].

Висновки. Розглянуті наукові дослідження свідчать, що підвищений рівень β -каротину може бути наслідком реакції клітин *D. salina* на стресові умови. Наявність активних форм кисню сприяє накопиченню β -каротину у клітинах мікроводорості та є одним із основних факторів, що пояснює зниження ефективності фотосинтезу.

Література

1. Xi, Y., Kong, F., & Chi, Z. (2021), ROS induce β -carotene biosynthesis caused by changes of photosynthesis efficiency and energy metabolism in *Dunaliella salina* under stress conditions. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 613768.

2. Lan, Y., Song, Y., Guo, Y., Qiao, D., Cao, Y., & Xu, H. (2022), DsLCYB Directionally Modulated β -Carotene of the Green Alga *Dunaliella salina* under Red Light Stress. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(12), 1623-1632.