

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

“ 03 ” листопада 2021 року

ЗАВДАННЯ

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

СТАРИЧЕНКО Кристини Максимівні

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи _____ Біосинтез біологічно активних речовин бактеріями роду *Pseudomonas* _____

керівник роботи _____ ПЕНЧУК Юрій Миколайович, доц., к.т.н. _____,
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від “02” листопада 2021 року № 863-кв

2. Строк подання здобувачем роботи _____ 1 лютого 2022 року _____

3. Вихідні дані до роботи _____ біологічний агент: *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586, цільовий продукт: Мупіроцин _____

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити)
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ. РОЗДІЛ 2. ХАРАКТЕРИСТИКА КІНЦЕВОГО ПРОДУКТУ. РОЗДІЛ 3. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА. РОЗДІЛ 4. ТЕХНІКО – ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ. РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ. РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ. РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ. РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СИНТЕЗУ МУПРОЦИНУ. РОЗДІЛ 9. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА ГОТОВОГО ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ. РОЗДІЛ 10. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ. РОЗДІЛ 11. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ГОТОВОГО ПРЕПАРАТУ. РОЗДІЛ 12. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ГОТОВОГО ПРЕПАРАТУ.

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема виробництва – 3 аркуші формату А1. Апаратурна схема виробництва – 3 аркуші формату А1.

6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання 03 листопада 2021 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ п/п	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Огляд літератури	03.11.2021 – 22.11.2021	
2	Характеристика кінцевого продукту	22.11.2021-30.11.2021	
3	Характеристика біологічного агента	01.12.2021-13.12.2021	
4	Техніко-економічне обґрунтування	13.12.2021-20.12.2021	
5	Обґрунтування вибору технологічної схеми	20.12.2021-31.12.2021	
6	Специфікація обладнання	01.01.2022-08.01.2022	
7	Опис технологічної схеми	08.01.2022-14.01.2022	
8	Контроль виробництва синтезу мупіроцину	14.01.2022-18.01.2022	
9	Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва готового лікарського засобу	18.01.2022-22.01.2022	
10	Специфікація обладнання	22.01.2022-25.01.2022	
11	Опис технологічної схеми одержання готового препарату	25.01.2022-28.01.2022	
12	Контроль виробництва готового препарату	28.01.2022-01.02.2022	

Здобувач _____
(підпис)

Кристина СТАРИЧЕНКО _____
(ім'я та прізвище)

Керівник роботи _____
(підпис)

Юрій ПЕНЧУК _____
(ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Дипломний проект присвячений розробці технологічної і апаратурної схеми культивування *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586 для отримання антибіотику мупіроцину. На відміну від раніше використовуваних штамів, даний штам утворює більшу концентрацію антибіотику, та забезпечує меншу вартість готового продукту.

Культивування проводять в ферментері глибинним способом. В процесі промислового біосинтезу проводиться мікробіологічний, технологічний і хімічний контроль.

Технологічна та апаратурна схеми біосинтезу включають:

1) допоміжні роботи: санітарна підготовка виробництва (підготовка виробничих приміщень, ферментаційного обладнання), підготовка стерильного аераційного повітря, підготовка і стерилізація поживних середовищ;

2) технологічний процес (підготовка посівного матеріалу, виробниче культивування, оброблення культуральної рідини, фасування препарату у пакети).

Дипломний проект складається з вступу, 12 розділів, списку використаних джерел, таблиць, рисунків, технологічної та апаратурної схем. Загальний обсяг роботи – 170 сторінка.

Ключові слова: *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586, мупіроцин, полікетидний антибіотик, поживні середовища, біосинтез, контроль виробництва.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	9
1.1. Антимікробні поверхнево-активні речовини бактерій роду <i>Pseudomonas</i>	9
1.2. Методи одержання поверхнево активних речовин.....	13
1.3. Біотехнологічні особливості одержання біологічно активних речовин.....	16
1.4. Антибіотичні речовини бактерій роду <i>Pseudomonas</i>	28
РОЗДІЛ 2. ХАРАКТЕРИСТИКА КІНЦЕВОГО ПРОДУКТУ.....	34
РОЗДІЛ 3. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА.....	40
3.1. Обґрунтування вибору біологічного та поживного середовища для його культивування.....	40
3.2 Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента.....	43
3.3 Таксономічний статус біологічного агента.....	44
РОЗДІЛ 4. ТЕХНІКО – ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ.....	46
4.1. Потреба у цільовому продукті.....	46
4.2. Розрахунок потужності виробництва.....	51
4.3 Розрахунок кількості річних виробничих циклів для отримання річної потреби в цільовому продукті та геометричний об'єм ферментера.....	53
4.4 Розрахунок кількості виробничих циклів для отримання річної потреби в цільовому продукті та геометричний об'єм ферментера.....	54
4.5 Розрахунок кількості стадій посівного матеріалу.....	55
РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	59
5.1. Обґрунтування способу культивування.....	59
5.2 Обґрунтування стадії підготовки виробничих приміщень, вибору мийних та дезинфікувальних засобів.....	60
5.3 Обґрунтування підготовки аераційного повітря.....	65
5.4. Вибір способу відділення біомаси та обладнання.....	68

5.5. Обґрунтування способу екстракції.....	70
5.6. Вибір способу концентрування цільового продукту та обладнання..	73
5.7 Вибір способу сушіння та сушарки.....	77
РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання.....	78
РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	83
РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СИНТЕЗУ МУПРОЦИНУ.....	105
9. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА ГОТОВОГО ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ.....	115
9.1. Обґрунтування вибору попередньої підготовки компонентів основи мазі.....	115
9.2 Обґрунтування основних стадій технологічного процесу виготовлення мазі.....	118
9.3 Обґрунтування вибору обладнання для приготування основи.....	118
9.4. Обґрунтування вибору обладнання для подрібнення муропіцину...	122
9.5. Обґрунтування вибору обладнання для гомогенізації.....	127
9.6 Обґрунтування вибору упаковки.....	132
9.7 Обґрунтування вибору обладнання для наповнення туб.....	137
9.8 Пакування і маркування готової продукції.....	140
РОЗДІЛ 10. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ.....	144
РОЗДІЛ 11. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ГОТОВОГО ПРЕПАРАТУ.....	146
РОЗДІЛ 12. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ГОТОВОГО ПРЕПАРАТУ.....	148
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	157

ВСТУП

Можливість держави у підтриманні здоров'я нації повністю залежить від стану фармацевтичної галузі. Тому виробництво лікарських засобів є важливим і актуальним питанням.

Недостатній рівень забезпечення населення України якісними ліками за доступними цінами ставить проблему розвитку національної фармацевтичної індустрії у ряд найважливіших державних проблем. Одним із основних напрямків фармацевтичної промисловості є отримання та забезпечення населення мупіроцинами.

Мупіроцини – це органічні речовини, що синтезуються мікроорганізмами в природі для захисту від інтервенції інших видів мікроорганізмів. Існує також велика кількість синтетичних мупіроцинів, які відрізняються модифікаціями функціональних груп природніх мупіроцинів. Такі модифіковані сполуки часто ефективніші, або стійкіші до нейтралізації, що виникає внаслідок набутої мікроорганізмами резистентності.

Характерними ознаками мупіроцинів є наступні:

- Вибірковість дії. У цьому полягає їх відмінність від загальнобіологічних отрут (спирт, перекис водню, перманганат калію, ціаніди, фенол та ін.). Кожен мупіроцин активний щодо певних груп організмів і не впливає на інші форми живих істот;

- Висока біологічна активність щодо чутливих до них організмів. Тобто мупіроцини активні за дуже низьких концентрацій. Так, концентрація пеніциліну, що спричиняє бактерицидну дію, становить 6 – 10 г/мл.

Мупіроцин одержаний в процесі ферментації культури *Pseudomonas fluorescens*, антимікробна активність мупіроцину вперше була помічена ще в 1887 р. Однак тільки наприкінці 60-х років А.Т. Фуллер зміг виділити із культури *P. fluorescens* NCIMB 10586 монокарбохінову кислоту, названу

					НУХТ БТЕК 02.02.13 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Стариченко КМ.			Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Пенчук Ю.М.				7	2
Реценз.					Кафедра БТМ		
Н. Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					

псевдомонієвою кислотою. Мупіроцин має хороший профіль безпеки завдяки низькій схожості з ізолейцин-тРНК-синтазою людини. В експериментах не виявлено впливу на репродуктивну систему, ембріотоксологічної дії теж немає.

Рівень системної адсорбції активної речовини мазі дуже низький. Системно адсорбований мупіроцин швидко метаболізується в неактивну монієву кислоту і виводиться з сечею. Вже за 30 хв після нанесення мазі на поверхню шкіри в системному кровотоці неможливо визначити навіть слідів мупіроцину.

Стабільна перевага мупіроцину перед іншими препаратами місцевої дії зумовлена відсутністю системних ефектів та неможливістю розвитку перехресної резистентності з іншими мупіроцинами, оскільки існують тільки місцеві лікарські форми цього мупіроцину — він не потрапляє до системного кровотоку або в кишечник, де існують сприятливі умови для селекції резистентної до мупіроцинів мікрофлори.

Актуальність. Захворювання шкіри сьогодні належать до розповсюджених медичних проблем. Кількість таких захворювань постійно зростає, незважаючи на розвиток медичної галузі. Для їх запобігання розроблено новий нешкідливий препарат «Бактробан». Виробництво даного лікарського засобу важливе в області медицини, через його безпеку та ефективність.

Новизна. В роботі пропонується використовувати як продуцент мупіроцину *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586, який має середню концентрацію по мупіроцину, а саме 2,5 мг/л, що не на багато відрізняється від *Pseudomonas* sp. NCAIM(P)B 001235 (2 мг/л), але поживне середовище *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586 хоча і коштує дорожче, але умовна вартість 1 г речовини *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586 є найнижчою.

РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1. Антимікробні поверхнево-активні речовини бактерій роду *Pseudomonas*

Мікробні поверхнево активні речовини (ПАР) мають широке використання у різних галузях народного господарства, зокрема для підвищення нафтовидобутку. Поверхнево-активні речовини можуть сприяти вилученню підземних органічних забруднювачів (відновлення навколишнього середовища) або сирови нафти [1-2].

Основне призначення використання ПАР - це усунення забруднення через їх здатності стабілізувати емульсії. Процес націлений на розчинність гідрофобних забруднювачів, тим самим збільшуючи їх здатність до біодеградації. Одне з корисних властивостей багатьох біосурфактантів, яка не вивчалася детально, - це їх антимікробна активність. Деякі речовини мають антибактеріальну, протигрибкову і противірусну активність. Інші важливі з медичної точки зору. Зокрема, застосування ПАР в якості антиадгезійних агентів по відношенню до патогенів, що робить їх корисними для лікування багатьох захворювань, а також в якості терапевтичних і пробіотичних агентів [3].

ПАР створює перспективи розробки як нових ліків із високою ефективністю і меншою токсичністю, так і отримання нових косметичних засобів із безпечною дією. Завдяки тому, що ПАР можуть виконувати функції різних допоміжних речовин: антимікробних консервантів, антиоксидантів та інших, які забезпечують диспергування, суспендування, загущення, емульгування, змочування і розчинність діючих речовин та стабілізацію рН [4].

Окрім цього, ПАР застосовується у харчовій промисловості. А саме, відповідають за взаємний розподіл двох незмішуваних фаз, за консистенцію харчового продукту, його пластичні властивості, в'язкість, поліпшення текстури і терміну зберігання продуктів. У харчовій промисловості до таких

					НУХТ БТЕК 02.02.13 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Стариченко К.М.			ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Пенчук Ю.М.					9	209
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

відносяться наприклад молоко, вершки, масло, маргарин, майонез, різні соуси.

У харчовій промисловості ПАР використовуються також в якості емульгаторів при обробці сировини, тоді як в хлібобулочних і м'ясних продуктах вони впливають на реологічні характеристики борошна. Поліпшення стабільності тіста, текстури, обсягу і консервації хлібобулочних виробів було досягнуто додаванням рамноліпідних поверхнево-активних речовин.

Біоповерхнево-активних речовин використовують у сільському господарстві.

Поверхнево активні сполуки використовуються в сільському господарстві для гідрофілізації ґрунтів. Хороша змочуваність і рівномірний розподіл є передумовами розпушування ґрунту. Утворення гідратів між емульгаторами та водою сприяє поліпшенню ґрунту.

Відомо, що рамноліпідна біоповерхнево-активна речовина, здебільшого виробляється родом *Pseudomonas*, має антимікробну активність. Наприклад, Zonix ТМ, який є товарним продуктом, суміш двох рамноліпідних біоповерхнево-активних речовин заявлена як біофунгіцид для запобігання та контролю патогенних грибів на садівничих та сільськогосподарських культурах. Крім того, не чинить шкідливого впливу на людину або навколишнє середовище від сукупного впливу біологічно активних речовин-рамноліпідів. Також повідомляється, що фунгіцини мають протигрибкову активність і тому можуть застосовуватися для біоконтролю хвороб.

Поверхнево-активна речовинам використовуюється у пральних порошках. Майже всі поверхнево-активні речовини є важливими компонентами сучасних пральних порошків – хімічно синтезовані та надають токсичність для живих організмів. Крім того, ці компоненти часто дають небажані ефекти. Тому зростаюче занепокоєння громадськості з приводу екологічної небезпеки та ризику, пов'язані з хімічними ПАР, стимулювали пошук екологічно чистих, природних замінників хімічних ПАР у пральних порошках.

Біоповерхнево-активні речовини використовують як біопестицид. Звичайна стратегія боротьби з членистоногими передбачає застосування

хімічних речовин широкого спектру дії та пестицидів, які часто чинять небажані ефекти. Крім того, поява популяцій комах, стійких до пестицидів, а також зростання цін на нові хімічні пестициди стимулюють пошук нових екологічно чистих засобів боротьби з переносниками. Врешті-решт, біоконтроль за шкідниками та переносниками комах стає однією з найбільш перспективних альтернатив хімічним пестицидам. Нариклад, відомо, що біоповерхневий активний засіб ліпопептиду, вироблений *Bacillus subtilis*, проявляє інсектицидну активність проти плодової мухи *Drosophila melanogaster*.

Стимулювання росту рослин. Прогресування життя у всіх формах залежить не тільки від сільськогосподарської та продовольчої безпеки, а й від особливостей ґрунту. Динамічний характер ґрунту є прямим проявом мікробів ґрунту, біомінералізації та синергетичної спільної еволюції з рослинами. Зі збільшенням світового населення попит на врожайність сільського господарства надзвичайно зріс, що призвело до великого виробництва хімічних добрив. Відомо, що біоПАР покращують енергію проростання та схожість насіння, стимулюють ріст та розвиток рослин і підвищують урожайність сільськогосподарських культур. Пожвавлення мікробів за допомогою стимуляторів росту рослин відбувається за допомогою прямих та непрямих підходів, таких як біозапіднення, активізація росту коренів, ризоремедіація, стійкість до хвороб тощо. [6]

Протягом останніх років зростає екологічна свідомість, і тому мікробні поверхнево-активні речовини мають важливу роль. Беручи до уваги важливість біоповерхнево-активних речовин, існує потреба вдосконалити технологічну технологію для зменшення виробничих витрат біологічного поверхнево-активної речовини. Тому актуальним є вивчення біохімічних властивостей біоповерхнево-активних речовин та їх потенційного застосування в різних галузях промисловості [5].

Здатність мікроорганізмів до формування біоплівки має велике клінічне значення, тому що вони беруть участь в розвитку хронічних запальних

процесів, в тому числі ранових інфекцій, обумовлюючи відсутність ефекту від проведеної етіотропної терапії. Більшість дослідників визнають, що провідну роль у розвитку інфекцій опікових ран грають *S. aureus* і *P. aeruginosa*. Докази наявності на поверхні гострих ран біоплівки з *S. aureus* були отримані за допомогою електронної і конфокальної лазерної скануючої мікроскопії при моделюванні раневого інфекційного процесу у мишей. При вивченні поверхні ран у свиней, структура шкіри яких найбільш близька до людської, також відмічено утворення біоплівок, що перешкоджають загоєнню ран. Результати досліджень експериментально зараженого раневого ложа у свиней виявили наявність біоплівок *S. aureus* на поверхні різаних ран, і біоплівок *P. aeruginosa* на поверхні опікових ран.

В даний час доведено здатність ізолятів *S. aureus* і *P. aeruginosa*, виділених з ран людини, до утворення біоплівок *in vitro*. Відомо, що тільки в біоплівкової формі на поверхні ран *P. aeruginosa* за допомогою молекулярної системи міжклітинного спілкування («quorum sensing») продукує пігмент піоціанін, що забарвлює ранові відокремлюване в зелений колір. Різними авторами були запропоновані концепції, що пояснюють те, як утворення біоплівок на поверхні ран сприяє хронізації раневого запального процесу. Наприклад, *P. aeruginosa* синтезує рамноліпіди, які погіршують функцію нейтрофілів і перешкоджають ефективному видаленню цих бактерій, а постійне вивільнення планктонних бактерій з біоплівки підтримує запальну відповідь в рані. Хронічні рани, як правило, характеризуються підвищеними локальними рівнями прозапальних цитокінів, вільних радикалів і протеаз, тривалим присутністю активованих нейтрофілів і макрофагів. Таким чином, біоплівки в ранах здатні довго підтримувати запалення, призводять до хронізації інфекційного процесу і порушення загоєння, що ускладнює догляд за раною і викликає серйозні труднощі при лікуванні. Найбільш вразливою в цьому відношенні категорією є пацієнти опікових відділень, внаслідок значної загрози внутрішньо інфікування і специфіки раневого дефекту, що створює умови для формування біоплівки: порушення цілісності шкірних покривів і слизових оболонок, наявність

продуктів некрозу і детриту. Дозрівання біоплівки і подальша дисперсія приводять до генералізації інфекційного процесу.

В даний час широко поширеним методом лікування інфекції опікових ран є обробка антисептичними препаратами. Однак ці препарати частіше призначаються емпірично, без урахування чутливості до них збудників інфекції, при цьому багато авторів вказують на зростаючу неефективність антисептиків. Наявні в ряді робіт дані присвячені вивченню чутливості до антисептиків планктонних форм бактерій або одновидових біоплёнок, в той час як майже всі біоплівкові спільноти в природі є полімікробні і включають в себе різні види мікроорганізмів. Виходячи з вищесказаного, визначення чутливості до антисептиків одновидових і багатовидових біоплівок, утворених клінічними ізолятами мікроорганізмів *in vitro*, є актуальним напрямком [7].

1.2. Методи одержання поверхнево активних речовин

Робота Orathai та співавтором [8] присвячена виділенню та порівнянню біоповерхнево-активних речовин, вироблених *Bacillus subtilis* PT2 та *Pseudomonas aeruginosa* SP4, для відновлення нафти. У роботі досліджено зростання мікробів, і найкращі терміни культивування для виробництва біоповерхневих речовин *Bacillus subtilis* PT2 та *Pseudomonas aeruginosa* SP4 були встановлені відповідно 51 та 48 год. Після культивування мікробів при 37°C в оптимальних умовах було виявлено, що біоповерхневі речовини, вироблені *Bacillus subtilis* PT2 і *Pseudomonas aeruginosa* SP4, знижують поверхневий натяг чистої води. Було встановлено, що обидва біоповерхнево-активні речовини можуть відновити нафту ефективніше, ніж синтетичні поверхнево-активні речовини.

У роботі Fenibo E. O та співавторів [9] представлений огляд сучасних знань про методи скринінгу та хроматографію, спектроскопічні інструменти, що використовуються для вивчення біоповерхнево-активних речовин. Результати детального вивчення цих інструментів можуть розкрити нові мікроорганізми, що виробляють поверхнево-активні речовини, розшифрувати

хімічне різноманіття та багатофункціональні властивості біоповерхнево-активних речовин, критичних для застосування в різних галузях промисловості.

Автором HuiqingChong [10] були описано мікробне виробництво рамноліпідів, проведені дослідження з метою вивчення безпечних та економічних методів отримання рамноліпідів. Різні метаболічні зусилля були також застосовані або до *Pseudomonasaeruginosa* для поліпшення його продукування рамноліпідів та зменшення його патогенності, або до інших непатогенних штамів шляхом введення ключових генів для безпечного виробництва рамноліпідів. Виявлено, що витрати на виробництво рамноліпідів можуть бути значно зменшені, якщо можна обійти стадію очищення рамноліпідів, наприклад, використання ферментаційного бульйону або штамів, що продукують рамноліпідів, безпосередньо при промисловому застосуванні рамноліпідів.

Робота Matthew Twigg та співавторів [11] присвячена темі поверхнево-активних речовин з моря, виробленню рамноліпідів морськими бактеріями. *Marinobacter* sp. та *Pseudomonas mendocina* не були шкідливими для *G. mellonella* протягом 72 годин зараження. Виробництво рамноліпідів у штамх бактерій, ізольованих від морського середовища, підкреслює глобальний океан як невикористаний ресурс для відкриття нових джерел біоповерхневих речовин.

Автором Rasoul Khademolhosseini [12] та співавторами робота спрямована на фізико-хімічну характеристику та оптимізацію виробництва біоповерхневих речовин природним штамом *Pseudomonasaeruginosa* НАК0 та оцінка його ефективності. Проведено випробування вивчення потенціалу для збільшення видобутку нафти.

Робота Rashedi H. Та авторів [13] присвячена виділенню та отриманню біоповерхнево-активної речовини з *Pseudomonas aeruginosa*, ізольованим із півдня іранських нафтових свердловин. У роботі виявлено, що в результаті синтезу біоповерхневих речовин, поверхневий натяг середовища зменшився з 73 мН/м до значень нижче 32 мН/м. Ізольований штам *Pseudomonas aeruginosa* був ідентифікований морфологічними, біохімічними та фізіологічним

показниками. Найкращі результати були отримані при використанні гліцерину як джерела вуглецю та застосуванні натрію нітрату NaNO_3 як джерела азоту призвів до більшого виробництва рамноліпиду, вираженого в рамнозі (4,26 г / л) і вихід по відношенню до біомаси ($Y_p / x = 0,65$ г / г).

Робота Santa Anna L.M. та співавторів [14] присвячена виробництву поверхнево-активних речовин з *Pseudomonas aeruginosa* PA1, ізольованої з нафтових свердловин. Вивчалось це виробництво молекул із використанням різних джерел вуглецю (н-гексадекан, парафінова олія, гліцерин та олія бабассу) та азоту (NaNO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ та $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$). Найкращі результати були отримані при використанні гліцерину в якості субстрату та використання нітрату натрію як джерела азоту призвели до більшого виробництва рамноліпиду, вираженого рамнозою (3,16 г/л) і виходом по відношенню до біомаси ($Y_p/x = 0,70$ г/г). Крім того, вивчались фізико-хімічні характеристики відпрацьованого бульйону з клітинами та без них, забезпечуючи низьку критичну концентрацію міцели 19 мг/л та значення токсичності 13 та 13,8 мг / л за допомогою двох досліджуваних організмів *Daphnia similis* та бактерія *Vibrio fisheri*.

Робота Nelly Christova. та співавторів [15] присвячена виробництву біоповержнево-активних речовин клітинами *Pseudomonas aeruginosa* BN10 із застосуванням кріогелю. Синтез біоповержневої речовини спостерігався протягом 9 циклів роботи, кожен цикл включає 7 днів при температурі навколишнього середовища та нейтральному рН. Найвищий вихід рамноліпідів 4,6 г /л був отриманий у 6-му циклі. Електронна мікроскопія виявила збереження форма клітини та регулярний розподіл клітин під поверхнею матриці.

Автори [16] повідомили про синтез двох катіонних поверхнево-активних речовин на основі N-алкіл-3-метилпіридину. Критична концентрація міцел вимірювалася ультрафіолетовою спектроскопією та кондуктометриєю. Крім того, для того, щоб продовжити біодоступність і, отже, збільшення

біоактивного потенціалу металевих комплексів цинку, також була досліджена їх взаємодія з синтезованими поверхнево-активними речовинами.

Метою дослідження авторів [17] є раціональна технологія розробки для ізоляції ПАР, отриманих з штамів *Pseudomonas SP. PS-17* та *P. fluorescens 8573*. Дослідження впливу різних кислот та температури на ефективність ізоляції продуктів поверхнево-активних речовин, вивчення властивостей отриманих продуктів. Визначення можливих напрямків використання супернатанта, отриманого після осадження біокомплексів як новий недорогий продукт.

Концентрат поверхнево-активного речовини рамноліпиду осаджували з культури рідкого супернатанта шляхом підкислення до рН 3-4 з кислотними розчинами (HCl, H₂SO₄, H₃PO₄, HNO₃, CH₃COOH), зберігаючи при 100 ° С протягом 25 хв, охолоджують до кімнатної температури, центрифугували. Поверхневий натяг визначався методом Du Noüy (з платиновим кільцем). Вплив на рослини оцінювали їх морфометричними параметрами після попередньої обробки насіння. *Результати дослідження.* Авторами була запропонована раціональна технологія для поверхнево-активних речовин з штамів *Pseudomonas sp. PS-17*- осадження. В результаті врожайність продукту збільшилася на 20%, а тривалість процесу зменшилася. Вивчено фізико-хімічні властивості після виділення ПАР з культуральної рідини. Показано, що ПАР ефективні якості емульгаторів, піноутворювачів та зволожуючих речовин.

1.3. Біотехнологічні особливості одержання біологічно активних речовин

Робота Покинсьбродо Т. Я., Пирог Т. П. зі співавторами [22] присвячена дослідженню синтезу поверхнево-активних речовин (біоПАР) штамом *Pseudomonas sp. PS-17* на суміші джерел вуглецю, а також вивченню впливу ПАР на біосинтез рамноліпідів та можливості стимуляції високодисперсними матеріалами фізіологічної активності бактерій. Встановлена ефективність застосування змішаних джерел вуглецю – гексадекан з гліцерином у

співвідношенні 1:6 для синтезу поверхнево-активних речовин (біоПАР) штамом *Pseudomonas sp.* PS-17, що дало змогу підвищити показники синтезу ПАР та скоротити процес культивування. Доведено, що додавання у середовище росту штаму *Pseudomonas sp.* PS-17 рамноліпідів та глауконіту має стимулювальний вплив на синтез ПАР. Показано, що рамноліпідні ПАР є ефективними емульгаторами гідрофобних речовин, тобто можуть використовуватись на заміну синтетичним у екологічно безпечних технологіях.

Робота Покинсьброд Т. Я. та співавторів [23] присвячена біосинтезу поверхнево-активних речовин мікроорганізмами родів *Pseudomonas* на соєвій олії. Встановлена ефективність застосування соєвої олії як дешевого субстрату для синтезу поверхнево-активних речовин (біоПАР) *Pseudomonas sp.* PS-17 та *P. Fluorescens* 8573. Розроблені композиції на основі синтезованих біоПАР, які мають великі перспективи як інгібітори корозії та препарати для рослинництва.

Робота Пирог Т. П. [24] та співавторів присвячена синтезу мікробних поверхнево-активних речовин різноманітної хімічної природи (рамноліпідів, софороліпідів, манозилеритритолліпідів, ліпопептидів) на відходах (олійно-жирової, цукрової, молочної промисловості, сільського і лісового господарства, виробництва біодизеля, а також на відпрацьованих — пересмажених рослинних оліях). Було встановлено, що найпридатнішими субстратами для синтезу мікробних поверхнево-активних речовин є олієвмісні відходи, які, на відміну від, наприклад, лігноцелюлозних, молочної сироватки, технічного гліцеролу, не потребують попереднього оброблення та очищення. Встановлено, що заміна традиційних субстратів для біосинтезу поверхнево-активних речовин відходами промислових виробництв дають змогу знизити собівартість технології у кілька разів, а також утилізувати непотрібні відходи, зняти з підприємств харчової промисловості, сільськогосподарського сектору та підприємств, які виробляють біодизель, проблему зберігання або знешкодження значної маси відходів, на що витрачається велика кількість енергії та коштів.

Методи виділення мають низку недоліків: або метод є дуже складним, що вимагає проведення кількох етапів робіт, або процес виділення є неповним, що

призводить до втрати частини продукту. Всі ці недоліки у результаті підвищують вартість отриманого продукту.

У роботі Ляскун Д. О зі співавторами [25] було проведено дослідження метою якого було розроблення ефективного методу виділення поверхнево-активного комплексу – продукту синтезу штаму *Pseudomonas aeruginosa* JRV-L. Встановлено, що нагрівання до 90–100°C та підкислення до рН 2,0 супернатанту культуральної рідини штаму *Pseudomonas aeruginosa* JRV-L сприяє повнішому осадженню рамноліпідного комплексу (РК), а також, що склад РК, одержаного з супернатанту культуральної рідини без додавання алюмокалієвих галунів (АГ), не змінюється: співвідношення рамноліпід : полісахарид (Р:П) є сталим (4:1). Внесення АГ збільшує вихід на 5–21 %, але змінює співвідношення Р:П до 3:1.

Робота Щеглова Н. С. та співавторів [26] присвячена впливу мікробних поверхнево-активних речовин (рамноліпідів, трегалозоліпідів мікробного походження) на ріст бобових рослин. Визначено оптимальну концентрацію біогенних поверхнево-активних речовин (0,01 г/л) для передпосівної обробки насіння люцерни та вики озимої, що сприяє зростанню їхньої надземної маси на 16–20%. Показано, що оброблення насіння розчинами біогенних поверхнево-активних речовин підвищує ефективність інокуляції насіння вики озимої культурою *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae*, при цьому надземна маса рослин збільшується на 34 % порівняно з контролем. У разі замочування живців квасолі в суміші біокомплексу PS та індолілоцтової кислоти кількість утворених коренів збільшується на 26,7%, а їхня маса — на 19,2 % порівняно із контролем (індолілоцтова кислота). Отже, встановлено, що біогенні поверхнево-активні речовини (рамноліпід, трегалозоліпід) стимулюють ріст бобових рослин (люцерни, вики), а також формування симбіозу вики озимої з бактеріями *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. Одним із механізмів впливу їх на ріст рослин є підвищення ефективності екзогенних фітогормонів, зокрема індолілоцтової кислоти.

Праця Карпенко О. [27] присвячена отриманню дослідних препаратів на основі трегалозоліпідних і рамноліпідних біоПАР, їх композицій, дослідження здатності до інгібування корозії і біокорозії сталі, а також екотоксичності отриманих інгібіторів. За показниками максимального ступеню захисту сталі від процесів корозії, а також антимікробної активності щодо збудників біокорозії вибрано інгібіторні композиції на основі трегалозоліпідних і рамноліпідних біогенних поверхнево-активних речовин з цинк фосфатом, а також технічний гліцерин. Визначено, що розроблені інгібітори корозії характеризуються низькою екотоксичністю. Результати проведеної роботи свідчать про ефективність та перспективи нових композицій на основі біогенних ПАР як екологічно безпечних інгібіторів для захисту металевих конструкцій від корозії і біокорозії.

Дослідженню впливу поверхнево-активних речовин (ПАР) *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 на адгезію деяких бактерій та дріжджів до фрагментів силіконових урогенітальних катетерів присвятили автора Берегова Х.А. та Пирог Т.П. [28]. У роботі встановлено, що поверхневоактивним речовинам *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 (як у вигляді супернатанту культуральної рідини, так і розчину ПАР) притаманна антиадгезивна дія, завдяки чому вони можуть бути використані для створення ефективних препаратів, що знижують адгезію мікроорганізмів на поверхні матеріалів медичного призначення.

Автором Хом'як Д.І. та іншими співаторами [29] було досліджено можливості інтенсифікації біосинтезу ПАР *Nocardia vaccinii* K-8 на гліцерині за присутності органічних кислот. В результаті проведених досліджень встановлено, що інтенсифікація біосинтезу ПАР *Nocardia vaccinii* K-8 спостерігалася за умови внесення органічних кислот у середовище з гліцерином на початку стаціонарної фази росту. За спільного внесення 0,1% цитрату і 0,1% фумарату кількість синтезованих ПАР підвищувалася на 40–45%. Досліджено, що внесення органічних кислот як у середовище для одержання посівного матеріалу, так і для біосинтезу ПАР не супроводжувалося підвищенням синтезу ПАР.

В результаті роботи авторів Пирог Т.П., Конон А.Д. та співавторів [30] встановлено, що препаратам ПАР *R. Erythropolis* ЕК-1 і *A. calcoaceticus* К-4 притаманні антимікробні властивості щодо ряду мікроорганізмів (*C. tropicalis* ПБТ-5, *B. subtilis* БТ-2, *C. utilis* БВС-65, *S. cerevisiae* ОБ-3, *E. coli* ІЕМ-1 і *C. albicans* Д-6), причому препаратам ПАР *A. calcoaceticus* К-4 властивий ширший спектр антимікробної дії. Встановлено, що виживання клітин досліджуваних тест-культур за присутності препаратів ПАР залежить від їхньої концентрації та тривалості експозиції.

Отже, спостерігається зростання інтересу до вивчення впливу біоПАР на клітини людини, тварин та навколишнє середовище. Українські вчені внесли великий вклад в отримання дослідних препаратів на основі біоПАР, впливу мікробних поверхнево-активних речовин на ріст рослин, ефективного методу виділення поверхнево-активного комплексу синтезу біоПАР на відходах і т.д.

У роботі Ashis K Mukherjee та Kishore Das [31] розглянуто мікробні поверхнево-активні речовини та їх потенційне застосування. Запропановано використання біоПАР в косметичній, харчовій, медичній, целюлозно-паперовій, вугільній, керамічній і металевій промисловості. Важливим та перспективними галузями застосування є очищення танкерів, забруднених нафтою, ліквідація розливів нафти, транспортування важкої сирої нафти, підвищення нафтовіддачі.

Emmanuel O. Fenibo зі співавторами [32] досліджували мікробні поверхнево-активні речовини для застосування їх в нафтовій промисловості і відновлення навколишнього середовища. Встановили, що використання біосурфактантів рамноліпідів (*Pseudomonas*), софороліпідів (*Torulopsis*), липид маннозілерітріта (*Candida*), сурфактин (*Bacillus*) і емульсан (*Acinetobacter*) зменшить забруднення довкілля, яке викликається синтетичними поверхнево-активними речовинами. Вважають, що контрольоване використання поверхнево-активних молекул допоможе в покращенні й очищенні від токсичних середовищ і забезпечить чисте довкілля.

У роботі Gautam K. K. та Tyagi [33] описані основні переваги мікробних поверхнево-активних речовин перед хімічними поверхнево-активними

речовинами. А саме: нижча токсичність, вища біологічна здатність до розкладання, краща екологічна сумісність, вища селективність та питома вага за екстремальних температур, рН, а також здатність синтезуватися з відновлюваної сировини. Саме через ці причини, як зазначено у роботі, попит на біоповверхневі активні речовини з кожним днем зростає.

У роботі авторів Kaskatepe та Yildiz [34] представлена загальна інформація про біо-поверхнево-активні речовини – рамноліпідів, що продукуються видами *Pseudomonas*, а також про їх виробництві та застосуванні. У роботі зазначено також умови культивування *Pseudomonas*, висвітлені різні субстрату для мікробіологічного виробництва поверхнево-активних речовин, серед яких є відходи продуктів молочної та лікеро-горілчаної промисловості, нафти і нафтопереробки та інші.

Робота El-Sheshtawy H. S. та Doheim M. M. [35] присвячена вибору *Pseudomonas aeruginosa* для виробництва біосурфактанта і вивчення його антимікробної активності. Виявлено, що два типи мікроорганізмів, які продукують ПАР, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-10145 і *Bacillus subtilis* NCTC-1040, підходили для виробництва біосурфактантів. Штам *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-10145 міг рости в культуральному середовищі, що містить глюкозу як джерело вуглецю, краще, ніж штам *Bacillus subtilis* NCTC-1040, через 96 годин. Вимірювання поверхневого натягу показало, що продукування ПАР *Pseudomonas aeruginosa* мало кращу поверхневу активність, ніж продукується *Bacillus*.

Робота Orathaі та співавтором [36] присвячена виділенню та порівнянню біоповверхнево-активних речовин, вироблених *Bacillus subtilis* PT2 та *Pseudomonas aeruginosa* SP4, для відновлення нафти. У роботі досліджено зростання мікробів, і найкращі терміни культивування для виробництва біоповверхневих речовин *Bacillus subtilis* PT2 та *Pseudomonas aeruginosa* SP4 були встановлені відповідно 51 та 48 год. Після культивування мікробів при 37°C в оптимальних умовах було виявлено, що біоповверхневі речовини, вироблені *Bacillus subtilis* PT2 і *Pseudomonas aeruginosa* SP4, знижують

поверхневий натяг чистої води. Було встановлено, що обидва біоповерхнево-активні речовини можуть відновити нафту ефективніше, ніж синтетичні поверхнево-активні речовини.

Результат роботи Díaz De Rienzo M.A. та співавторів [37] показали, що рамноліпіди при низькій концентрації у присутності каприлової кислоти є перспективними молекулами для інгібування, руйнування біоплівки, утвореної *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442.

У роботі Fenibo E. O та співавторів [38] представлений огляд сучасних знань про методи скринінгу та хроматографію, спектроскопічні інструменти, що використовуються для вивчення біоповерхнево-активних речовин. Результати детального вивчення цих інструментів можуть розкрити нові мікроорганізми, що виробляють поверхнево-активні речовини, розшифрувати хімічне різноманіття та багатофункціональні властивості біоповерхнево-активних речовин, критичних для застосування в різних галузях промисловості.

Автором Huiqing Chong [39] були описано мікробне виробництво рамноліпідів, проведені дослідження з метою вивчення безпечних та економічних методів отримання рамноліпідів. Різні метаболічні зусилля були також застосовані або до *Pseudomonas aeruginosa* для поліпшення його продукування рамноліпідів та зменшення його патогенності, або до інших непатогенних штамів шляхом введення ключових генів для безпечного виробництва рамноліпідів. Виявлено, що витрати на виробництво рамноліпідів можуть бути значно зменшені, якщо можна обійти стадію очищення рамноліпідів, наприклад, використання ферментаційного бульйону або штамів, що продукують рамноліпіди, безпосередньо при промисловому застосуванні рамноліпідів.

Робота Matthew Twigg та співавторів [40] присвячена темі поверхнево-активних речовин з моря, виробленню рамноліпідів морськими бактеріями. *Marinobacter sp.* та *Pseudomonas mendocina* не були шкідливими для *G. mellonella* протягом 72 годин зараження. Виробництво рамноліпідів у штамх

бактерій, ізольованих від морського середовища, підкреслює глобальний океан як невикористаний ресурс для відкриття нових джерел біоповірхневих речовин.

У роботі Paulo André Vicente Fernandes [41] про антимікробну активність біоповірхнево-активних речовин, отриманих культивуванням *Bacillus subtilis* R14 досліджували проти мультирезистентних бактерій. Оцінка антимікробного засобу активність цих сполук здійснювалась проти 29 бактерій. Всі штами були чутливі до ПАР, в зокрема *Enterococcus faecalis*. Результати продемонстрували, що ліпопептиди мають широкий спектр дії, включаючи антимікробну активність.

Автором Rasoul Khademolhosseini [42] та співавторами робота спрямована на фізико-хімічну характеристику та оптимізацію виробництва біоповірхневих речовин природним штамом *Pseudomonas aeruginosa* НАК0 та оцінка його ефективності. Проведено випробування вивчення потенціалу для збільшення видобутку нафти.

Огляд автора Emmanuel O. Fenibo [43] має на меті запропонувати різноманітне застосування, де біоповірхнево-активні речовини виявилися корисними, з акцентом на нафтових біотехнологіях, екологічній та у сільському господарстві. Застосування біоповірхнево-активної речовини, на думку авторів, в цих умовах призведе до промислового зростання та екологічної стійкості.

У роботі Tayebe Lotfabad [44] проведена оцінка антибактеріальної здатності рамноліпідів, продукованих двома корінними штамми *Pseudomonas aeruginosa*. Вони виявляють не тільки поверхневу активність, але й інгібуючий ефект проти грам позитивних бактерій. Згідно з результатами, хоча жоден з двох біоповірхнево-активних речовин не продемонстрував значного впливу на інгібування росту грамнегативних бактерій, проте обидва методи оцінки підтвердили інгібування росту грам позитивних бактерій.

Розглядаючи важливість біоповірхнево-активних речовин, в оглядовій статті, автором Vijayakumar [45] представлена оцінка різних джерел біоповірхнево-активних речовин, а також їх властивостей та застосувань, що є основним напрямком майбутніх досліджень. Автором зазначено, що необхідні

інноваційні дослідження, щоб замінити хімічно синтезовані біоциди, які в даний час використовуються як антикорозійні агенти, екологічно чистими розчинами, що не мають негативних наслідків на навколишнє середовище та людей. Відкриття нових біологічних шляхів та зменшення ефекту мікробної корозії має велике значення, на думку автора.

У статті Bustamante [46] та співавторів подано огляд характеристик природних та синтетичних ПАР та впливу біоповерхнево-активних речовин на розчинність, сорбцію та біодеградацію гідрофобних органічних забруднень. Окрім цього, вплив біоповерхнево-активних речовин на мікроорганізми-деградатори як гриби білої гнилі. Нарешті, наведено кілька прикладів застосування природних ПАР для біоремедіації забруднених ґрунтів. Загалом, цей огляд вказує на великий потенціал біоповерхнево-активних речовин у відновленні забруднених ділянок

У роботі Jenyffer Medeiros Campos та співавторів [47] оглянуто властивості біоповерхневих речовин, сучасне використання та потенційне застосування в якості харчових добавок, що діють як загусники, емульгатори, диспергуючі або стабілізуючі речовини. Використання агропромислових відходів як альтернативних субстратів для їх виробництва.

Робота Marcia Nitschke та співавторів [48] присвячена виробництву біоповерхневих речовин *Pseudomonas aeruginosa* LBI. Ця робота досліджує виробництво рамноліпідних поверхнево-активних речовин із використанням звичайних цукрові субстрати та альтернативні нафтові відходи. Поверхнево-активні властивості та попередні структурні характеристика рамноліпідів, отриманих з відходів також оцінювались. Штам *Pseudomonas aeruginosa* LBI зміг рости і виробляти рамноліпідні поверхнево-активні речовини з використанням відходів нафтопереробного заводу як джерела вуглецю.

У роботі Eduardo J. та співавторів [49] описують найпоширеніші методи, які можуть бути використані для отримання, відновлення та очищення рамноліпідів, використовуючи хроматографічні методики для відновлення та розділення споріднених мононорманоліпідів та дирхамноліпідів. Методи

можуть використовуватись для виробництва, відновлення та очищення рамноліпідів. Спосіб відновлення рамноліпідів здійснюється за допомогою адсорбційної хроматографії.

У роботі Dorota Cierniak та співавторів [50] було проведено довідкове дослідження щодо репрезентативних поверхнево-активних речовин (катионних, аніонних та неіонних), а також дріжджів, грамнегативних, грампозитивних бактерій та активного мулу, щоб виділити можливі помилки, які можуть виникнути внаслідок ігнорування процесів сорбції при визначення деградації ПАР. Це особливо стосується систем, які включають іонні поверхнево-активні речовини та активний мул, оскільки сорбція може становити 90% спостережуваного виснаження ПАР. Тому було запропоновано систематичний підхід з метою підвищення достовірності отриманих результатів. Нарешті, було підкреслено необхідність застосування додаткових процедур, які можуть знадобитися для того, щоб перевірити, що зменшення концентрації ПАР є результатом процесів біологічного розкладання.

Метою дослідження Hossein Amani та співавторів [51] було дослідити, чи може бути отримана суміш рамноліпідів у достатньо високих кількостях для посиленого видобутку нафти в лабораторних масштабах, і довести її потенційне використання як ефективного матеріалу для польового застосування. У цій роботі показана здатність *Pseudomonas aeruginosa* MM1011 вирощувати та виробляти рамноліпід на соняшнику як єдине джерело вуглецю при обмеженні азоту. Досліджено стабільність рамноліпиду при різних рН та температурі, а також його емульгуючу активність. Поверхнево-активна речовина ефективна при низьких концентраціях, в широкому діапазоні температур, рН та концентрацій солі, а також має здатність емульгувати нафту, що важливо для посиленого відновлення олії.

У дослідженні Wadekar S. D. та співавторів [52] увага була зосереджена на отриманні рамноліпідів, які є біоповержнево-активними речовинами, з використанням потенційних смажених харчових олій як джерела вуглецю за допомогою методу мікробної ферментації. Використання недорогих субстратів

як джерела вуглецю було наголошено на зменшенні витрат на виробництво рамноліпідів. Неочищений продукт містив переважно дирхамноліпід, підтверджений тонкошаровою хроматографією (ТШХ), високоефективною рідинною хроматографією (ВЕРХ), рідинною хроматографією-мас-спектроскопією (ЖХ-МС). Отже, обробку можна використовувати для перетворення відпрацьованої олії для смаження як недорогого субстрату в економічне джерело вуглецю.

Метою дослідження Vania Patrone [53] була оцінка можливих синергетичних антимікробних взаємодій між звичайними косметичними консервантами та вибраними ефірними оліями або поверхнево-активними речовинами. Антимікробну ефективність шести ефірних масел, трьох поверхнево-активних речовин та п'яти консервантів проти *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 та *Staphylococcus aureus* ATCC оцінювали за допомогою аналізу мікророзведення бульйону. Всі ефірні олії виявляли антибактеріальну активність; серед поверхнево-активних речовин бактерії виявились найбільш сприйнятливими до катіонного агента. Синергія спостерігалася при поєднанні ефірних масел евкаліпта та м'яти з метилпарабеном проти *Pseudomonas aeruginosa*, тоді як ефірні масла м'яти, материнки та шавлії в поєднанні з пропілпарабеном та імідазолідинилсечовиною діяли проти *Staphylococcus aureus*. Ці результати підкреслюють потенційну корисність ефірних масел та поверхнево-активних речовин для посилення активності звичайних біоцидів. Цей вид досліджень повинен сприяти вибору та оптимізації систем консервантів для косметичних препаратів.

Робота Zhenmin Cheng та співавторів [54] була присвячена посиленню біодеградації ПАР. Для вирішення проблеми відновлення поживних речовин у стічних водах авторами була запропанована мікроаерація і це було доведено як ефективний підхід, що призвів до зниження концентрації ПАР та розчинної хімічної потреби кисню анаеробного мембранного біореактора шляхом введення мікроаерації. Після впровадження мікроаерації, які виникають у мікробній спільноті роди *Aquamicrobium*, *Flaviflexus*, *Pseudomonas* і

Thiopseudomonas можуть бути відповідальними за ефективну біологічну деградацію ПАР.

У роботі Gloria Soberón-Chávez [55] розглядається шляхи біосинтезу рамноліпідів, показуючи, що він має метаболічні зв'язки з численними бактеріальними продуктами, такими як альгінат, ліпополісахарид, полігидроксиалканоати та 4-гідрокси-2-алкілхіноліни. Обговорюються також фактори, що контролюють виробництво рамноліпідів, та пропонувані ролі, які біоповерхнево-активна речовина відіграє у способі життя *Pseudomonas aeruginosa*.

Робота Rashedi H. Та авторів [56] присвячена виділенню та отриманню біоповерхнево-активної речовини з *Pseudomonas aeruginosa*, ізольованим із півдня іранських нафтових свердловин. У роботі виявлено, що в результаті синтезу біоповерхневих речовин, поверхневий натяг середовища зменшився з 73 мН/м до значень нижче 32 мН/м. Ізольований штам *Pseudomonas aeruginosa* був ідентифікований морфологічними, біохімічними та фізіологічними показниками. Найкращі результати були отримані при використанні гліцерину як джерела вуглецю та застосуванні натрію нітрату NaNO_3 як джерела азоту призвів до більшого виробництва рамноліпиду, вираженого в рамнозі (4,26 г / л) і вихід по відношенню до біомаси ($Y_p / x = 0,65$ г / г).

Робота Santa Anna L.M. та співавторів [57] присвячена виробництву поверхнево-активних речовин з *Pseudomonas aeruginosa* PA1, ізольованої з нафтових свердловин. Вивчалось це виробництво молекул із використанням різних джерел вуглецю (н-гексадекан, парафінова олія, гліцерин та олія бабассу) та азоту (NaNO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ та $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$). Найкращі результати були отримані при використанні гліцерину в якості субстрату та використання нітрату натрію як джерела азоту призвели до більшого виробництва рамноліпиду, вираженого рамнозою (3,16 г/л) і виходом по відношенню до біомаси ($Y_p/x = 0,70$ г/г). Крім того, вивчались фізико-хімічні характеристики відпрацьованого бульйону з клітинами та без них, забезпечуючи низьку критичну концентрацію міцели 19 мг/л та значення токсичності 13 та 13,8 мг / л

за допомогою двох досліджуваних організмів *Daphnia similis* та бактерія *Vibrio fisheri*.

Робота Nelly Christova. та співавторів [58] присвячена виробництву біоповерхнево-активних речовин клітинами *Pseudomonas aeruginosa* BN10 із застосуванням кріогелю. Синтез біоповерхневої речовини спостерігався протягом 9 циклів роботи, кожен цикл включає 7 днів при температурі навколишнього середовища та нейтральному рН. Найвищий вихід рамноліпідів 4,6 г /л був отриманий у 6-му циклі. Електронна мікроскопія виявила збереження форма клітини та регулярний розподіл клітин під поверхнею матриці.

1.4. Антибіотичні речовини бактерій роду *Pseudomonas*

Мупіроцин – полікетидний антибіотик, виділений та охарактеризований із ґрунтової бактерії *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586. Мупіроцин є комплексом полікетидного антибіотика, спочатку виділеного з *P. fluorescens*. Псевдомонової кислоти А, В, С і D використовуються локально для лікування інфекцій, спричинених грампозитивними бактеріями, включаючи метицилінрезистентний *S. aureus* (MRSA).

Основна структура мупіроцину включає монову кислоту (гептакетид), що містить піранове кільце, приєднану до 9-гідроксинонанової кислоти за допомогою складноефірного зв'язку [59]. Мупіроцин має широкий спектр активності проти грампозитивних та грамнегативних бактерій, хоча більшість досліджених грамнегативних бактерій менш чутливі, ніж грампозитивні бактерії. Антибіотик діє шляхом пригнічення бактеріальної ізолейцил-тРНК-синтетази.

Полікетид мупіроцин є цінним антибіотиком, який зараз використовується в терапевтичних цілях. До цього часу він був отриманий тільки з *P. fluorescens* NCIMB 10586, де його синтез кодується ділянкою довжиною 65 т.п.н., що включає 35 генів [60]. У цій роботі п'ять нових штамів, що продукують мупіроцин, були ідентифіковані в ході скринінгу філогенетично

різноманітної колекції з 578 штамів та ізолятів *Pseudomonas*. Разом з двома зареєстрованими штамми, що продукують мупіроцин, D7 та G11 [61].

Мікроорганізми роду *Pseudomonas* продукують широкий спектр гетероциклічних антибіотиків, включаючи феназин, похідні хіноліну та піролу, гетероциклічні хінони та ін [62]. Багато з цих речовин синтезуються штамми *P. fluorescens*, одного з найплідніших продуцентів антибіотиків у цьому роді. Корт [63] виділив з підземних вод штам *P. fluorescens*, який продукував червоний пігмент псевдойодинін. Штам-продуцент був віднесений до нового різновиду *P. fluorescens* var. псевдойодинум. Хоча Лінднер і Шаден показали піразоло-[4,3-е] ас-триазинову природу псевдойодиніна.

З ризосфери пшениці, люцерни, суниці та буряків виділено 15 штамів *Pseudomonas*, що продукують флувіол (ІМВ В-304, ІМВ В-358-ІМВ В-371). Штами різних біоварів *P. fluorescens*, ІМВ Б-17 (АТСС 13525, біовар I), ІМВ Б-28 (біовар II), ІМВ Б-36 (біовар III). ІМВ-64 (біовар V), *P. aurantiaca* ІМВ В-102 і *P. aureofaciens* ІМВ В-306 також використовувалися в експериментах з гібридизації ДНК-ДНК [62].

Штам *Pseudomonas aeruginosa* LV продукує металоорганічну сполуку з антимікробною активністю щодо бактерій MDR, у тому числі продуцента карбапенемази *Klebsiella pneumoniae* КРС. Крім того, той же штамну (невеликій кількості), яка виявляла протигрибковий потенціал щодо *Botrytis cinerea*. Мабуть, хлорид міді індукує продукцію цієї сполуки, оскільки в супернатанті штаму *P. aeruginosa* LV, що культивується за його відсутності, антимікробна активність не виявляється. Штам *P. aeruginosa* LV культивували в поживному середовищі при 28°C протягом 24 годин у присутності або відсутності хлориду міді (0,1 г/л) [63].

Pseudomonas mesoacidophila була виділена з зразків японського ґрунту наприкінці 1970-х років. Відомо, що він продукує сульфамат монобактам ізосульфазецин і булгєцини, групу сульфатованих глікопептидів, які пригнічують літичні трансглікозилази і метало- β -лактамази і посилюють активність β -лак. Була підтверджена наявність булгєцину в культуральному

середовищі *P. mesoacidophila* ATCC 31433. Раніше було показано, що булгегин потенціює активність β -лактамних антибіотиків і викликає утворення опуклостей у *Escherichia coli*. Після 78 год культивування при 28°C середовищ PF *P. mesoacidophila* давала 36 г клітинного осаду на літр культури і знижувала рН середовища з 7,0 до $5,5 \pm 0,5$. Середовище набуло характерного фруктового запаху і залишалось прозорим навіть після багаторазового центрифугування при 6000 г для видалення клітин. Культуральний фільтрат *P. mesoacidophila* потенціював літичну активність цефуроксиму щодо *E. coli* і викликало утворення опуклості в присутності булгегину [64].

Штам бактерій *Pseudomonas chlororaphis* ssp. *aurantiaca*, що має підвищений рівень синтезу феназинових антибіотиків. Встановлено, що поєднання генетичних та генно-інженерних підходів отримання продуцентів з підбором оптимального складу поживних середовищ та умов культивування дозволяє підвищити вихід феназинових сполук у 11,4 рази (до 842 мг/л). Визначено нуклеотидну послідовність *psrA*-гену бактерій *P. chlororaphis* ssp. *aurantiaca* B-162, створено генно-інженерну конструкцію для здійснення сайт-спрямованого мутагенезу даного гена, використання якої дозволило отримати мутанти з підвищеним рівнем синтезу феназинів (в 1,5 рази). Показано, що *psrA*-ген є потенційним кандидатом на його клонування з метою створення промислових продуцентів феназинових антибіотиків. штам *P. chlororaphis* ssp. *aurantiaca* B-162 (раніше *P. aurantiaca* B-162) з колекції кафедри генетики БДУ (колекційний номер ВКМВ-162), а також отримані нами раніше на його основі мутантні штами B-162/255, B-162/55, B-162/17 – надпродуценти феназинових антибіотиків; штами *P. chlororaphis* 1393, *P. chlororaphis* 1246, *P. mendocina* ВКМВ1299, *P. putida* КМБУ 4307, *P. fluorescens* ВКМВ1407 [65].

Внаслідок скринінгу серед штамів Української колекції мікроорганізмів *Pseudomonas* sp. був обраний штам 2303 з високою антибактеріальною та протигрибковою активністю. Зона пригнічення росту фітопатогенних бактерій *Pseudomonas syringae*, *Pectobacterium carotovorum*, *Xanthomonas campestris*, *Clavibacter michiganensis*, *Agrobacterium tumefaciens* складала 18-39 мм; індекс

інгібування щодо мікроміцетів родів *Fusarium*, *Bipolaris*, *Pythium* та *Gaeumannomyces* коливався від 39 до 51%. Псевдомонади зр. Штам 2303 також характеризувався високою альгіцидною активністю: рідка безклітинна культура (розведення 1:5) пригнічувала культивування ціанобактерій *Anabaena variabilis*, *Nostoclinckia* і *Microcystis aeruginosa* на 85-90%. ВЕРХ-аналіз *Pseudomonas* sp. 2303 рідкої культури виявили діючу речовину антибіотика - феназин-1-карбонову кислоту [66].

Значні концентрації флороглюцину були синтезовані *Pseudomonas fluorescens* Pf-5, що експресують локалізований у плазміді кластер генів *phlACBDE*, що відповідає за біосинтез 2,4-діацетилфлороглюцину. Експресія одного гена в кластері *P. fluorescens* Pf-5 *phlD* призводила до позаклітинного накопичення флороглюцину [67].

Монобактами, прикладом яких є природний продукт сульфазецин, є єдиним класом β -лактамних антибіотиків, які не інактивуються метало- β -лактамазами, які надають бактеріям стійкості до β -лактамів розширеного спектру. Результатом скринінгу стало створення бібліотеки мутагенезу транспозонів з *Pseudomonas acidophila* ATCC 31363 та виділено мутант з дефіцитом сульфазецину, який виявив кластер генів, що кодує дві нерибосомні пептидні синтетази (NRPS), метилтрансферазу, сірку [68].

Вид бактерій *Pseudomonas batumici* - продуцент селективного антистафілококового антибіотика батуміну. Здатність штаму-продуцента батуміну до утворення біоплівки і стимуляції цього процесу самим антибіотиком у концентраціях 1 і 10 мкг/мл. Також відзначено, що у планктонній культурі *P. batumici* В-321 за присутності 10 мкг/мл батуміну довжина клітин продуцента збільшувалась у середньому на 15% [69].

Pseudomonas aeruginosa утворює піоціаназу, піоціанін, піоліпоєву кислоту та інші піо-сполуки.

1-Гідроксифеназин (1-OH-PHZ) являє собою мікробний метаболіт феназину з антибактеріальною активністю широкого спектра проти багатьох патогенів рослин. фермент PhzS (монооксигеназа) був гетерологічно

експресований у штамі *Pseudomonas chlororaphis* H18, що генерує феназин-1-карбонову кислоту (РСА), і був виділений 1-гідроксифеназин, охарактеризований у генетично модифікованому штамі. Потім вихід 1-гідроксифеназину систематично конструювали за допомогою стратегій, включаючи напівраціональне ремоделювання ключового білка PhzS, блокування проміжного шляху споживання РСА, посилення пулу попередників, інженерію регуляторні гени та ін. Нарешті, титр 1-гідроксифеназину досяг 3,6 г/л у 5-літровому ферментері за 54 години [70].

Пірролінтрин (PRN) являє собою мікробний галометаболіт піролу, що має величезне антимікробне значення для застосування в сільському господарстві, фармацевтиці та промисловості. З'єднання та його похідні були виділені з ризосферних флуоресцентних або нефлуоресцентних псевдомонад, *Serratia* та *Burkholderia*. Відомо, що вони забезпечують біологічний контроль над широким спектром фітопатогенних грибів і, таким чином, забезпечують надійний захист рослин від ґрунтових і фітопатогенних хвороб, що передаються через насіння. Хоча хімічний синтез PRN був отриманий з використанням різних стадій, мікробне виробництво, як і раніше, є найбільш підходящим варіантом для виробництва цього метаболіту.

Штами дикого типу секретують PRN у невеликій кількості, і продукція варіюється залежно від компонентів середовища. Штам *P. aureofaciens* ATCC 15926 при вирощуванні в мінімальному середовищі секретував PRN у низькій концентрації (<0,3 мкг/мл). Навіть оптимізована варіація компонентів у живильному середовищі не могла збільшити продукцію PRN. Однак виробництво збільшилося в 30 разів, коли *P. aureofaciens* ATCC 15926 був мутований за допомогою N-метил-N'-нітро-N-нітрозогуанідину [75]. Додавання DL-триптофану (1 мг/мл) у середу СММ також подвоювало продукцію PRN через 120 годин, але додаткова кількість триптофану призводила до меншого виходу. *P. multivorans* C653 (ATCC 17760) демонстрував максимальну продукцію PRN у середовищі С, потім у середовищі Е, а потім у середовищі

СММ. П. золотистий було показано, що він секретує помірний PRN в середовищі СММ (40-80 мкг/мл) [71].

Супернатанти культуральних рідин *P. chlororaphis* subsp. *aureofaciens* В-111 і В-306, вирощених на середовищі Кінг А, а також виділені з них шляхом упарювання, діалізу та ліофілізації препарати екзополімерів мали високу активність щодо вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ). У дозі 10 мг/мл вони знижували інфекційність ВТМ на 76–96%, при концентраціях 1 та 0.1 мг/мл противірусний ефект відповідно зменшувався до 40–62 та 14–27%. Діаліз не впливав на противірусну активність виділених препаратів, які містили від 2 до 7, 6% вуглеводів, у тому числі нейтральні моносахариди фукозу, маннозу, галактозу та глюкозу [72].

Масетолід А являє собою циклічний ліпопептидний (ЦЛП) антибіотик, що продукується різними штамми *Pseudomonas* з різних середовищ. Клонування, секвенування, сайт-спрямований мутагенез і комплементация показали, що біосинтез масетоліду А *P. fluorescens* SS101 регулюється трьома генами нерибосомальної пептидної синтетази (NRPS), позначеними як *massA*, *massB* і *massC* [73].

Pseudomonas aeruginosa використовує п'ятиферментний шлях для синтезу низькомолекулярного комплексу флуопсину С, який побудований з цистеїну та містить іон міді. Біосинтез включає незвичайні ферментативні перетворення, які перетворюють цистеїн на тіогідроксимат, два з яких хелатують іон міді в кінцевому натуральному продукті. Флуопсин С захищає *P. aeruginosa* від надлишку міді, а також діє як антибіотик широкого спектра дії проти інших бактерій [74].

- 2% мазі на поліетиленгліколевій основі.

Поліетиленгліколева основа «Бактробану» може викликати подразнення (свербіж, висип) при нанесенні на пошкоджену шкіру та на слизові оболонки;

- 2 % крему на парафіновій основі і водорозчинній основі – для лікування вторинних шкірних захворювань (екзема, опіки, рани) [59].

Мупіроцин має хороший профіль безпеки завдяки низькій схожості з ізолейцин-тРНК-синтазою людини. В експериментах не виявлено впливу на репродуктивну систему, ембріотоксологічної дії теж немає.

Рівень системної адсорбції активної речовини мазі дуже низький. Системно адсорбований мупіроцин швидко метаболізується в неактивну монієву кислоту і виводиться з сечею. Вже за 30 хв після нанесення мазі на поверхню шкіри в системному кровотоці неможливо визначити навіть слідів мупіроцину.

Стабільна перевага «Бактробану» перед іншими препаратами місцевої дії зумовлена відсутністю системних ефектів та неможливістю розвитку перехресної резистентності з іншими антибіотиками, оскільки існують тільки місцеві лікарські форми цього антибіотика — він не потрапляє до системного кровотоку або в кишечник, де існують сприятливі умови для селекції резистентної до антибіотиків мікрофлори [60].

Фармакокінетика. Мупіроцин погано проникає крізь неушкоджені шкірні покриви. У разі абсорбції крізь уражену шкіру він метаболізується до мікробіологічно неактивного метаболіту монієвої кислоти та швидко виводиться з організму нирками [59, 61].

Фармакодинаміка. Мупіроцин – антибіотик, що виробляється шляхом ферментації мікроорганізму *Pseudomonas fluorescens*. Мупіроцин пригнічує ізолейцил-тРНК-синтазу, що призводить до інгібування синтезу білка в бактеріальній клітині. Внаслідок специфічного механізму дії та унікальної хімічної структури мупіроцин не має перехресної резистентності до інших антибіотиків. У разі правильного застосування мупіроцину ризик появи резистентних штамів мікроорганізмів невеликий. При застосуванні в

мінімально інгібуючих концентраціях мупіроцин має бактеріостатичні, а при застосуванні у більш високих концентраціях – бактерицидні властивості. Як антибіотик для місцевого застосування мупіроцин *in vivo* проявляє активність відносно *Staphylococcus aureus* (включаючи метицилінрезистентні штами), *S. Epidermidis* та бетагемолітичних штамів *Streptococcus* [59,61].

Спектр антибактеріальної активності препарату *in vitro*:

1) грамозитивні аероби:

- *Staphylococcus aureus* (включаючи штами, резистентні до метициліну та беталактамазопродукуючі штами);
- *Staphylococcus epidermidis* (включаючи штами, резистентні до метициліну та беталактамазопродукуючі штами);
- інші коагулазонегативні штами стафілококів (включаючи метицилінрезистентні штами);

- *Streptococcus species*;

2) грамнегативні аероби:

- *Haemophilis influenzae*
- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Neisseria meningitides*
- *Moraxella catarrhalis*
- *Pasteurella multocida*
- *Proteus mirabilis*
- *Proteus vulgaris*
- *Enterobacter cloacae*
- *Enterobacter aerogenes*
- *Citrobacter freundii*
- *Bordatella pertussis*

3) нечутливі мікроорганізми:

- *Corynebacterium species*
- *Enterobacteriaceae*
- грамнегативні неферментуючі палички

- *Micrococcus species*
- Анаероби [59, 61].

Механізм дії. Антибактеріальну дію мупіроцину пов'язано з інгібуванням ферменту ізолейціл-тРНК-синтетази, в результаті чого порушується синтез бактеріальних білків і РНК, меншою мірою – синтез ДНК і утворення клітинної стінки. У зв'язку з унікальністю даного механізму перехресна резистентність мупіроцину з іншими класами антимікробних препаратів(АМП) відсутня. Однак існує можливість стійкості до мупіроцину при використанні окремих АМП (муропіцин, триметоприм) і антисептиків (триклозан) в результаті спільного перенесення резистентних генів. Залежно від концентрації мупіроцину може надавати як бактеріостатичну, так і бактерицидну дію[60].

Протипоказання

Вагітність. Застосовувати при вагітності не рекомендується.

Годування груддю. Проникнення мупіроцину в грудне молоко не вивчено. У зв'язку з відсутністю даних про безпеку застосовувати у жінок, які годують груддю, не рекомендується.

Педіатрія. Згідно з даними фармакокінетичних досліджень, у новонароджених і недоношених спостерігається значна системна абсорбція мупіроцину після інтраназального введення. Безпека інтраназального введення мупіроцину у новонароджених і дітей до 12 років не вивчена, тому інтраназальне застосування у цих вікових груп не рекомендується.

Порушення функції нирок. При нанесенні мазі на велику площу відкритих ран або опіків підвищується ступінь всмоктування поліетиленгліколю, що входить до маzewої основи, що може призводити до нефротоксичної дії, особливо у пацієнтів з помірним або значними порушенням функції нирок [59,60].

Дозування. Використовувати препарат слід регулярно, приблизно в один і той же час, не можна застосовувати пропущену дозу, якщо майже настав час застосування наступної дози, не можна подвоювати дозу. Суворо дотримуватися відповідності використовуваної лікарської форми показаннями

до застосування. Не можна вводити дерматологічну мазь інтраназально. Перед застосуванням дерматологічної мазі слід вимити руки з милом і ретельно їх висушити. Невелика кількість препарату наносять на уражені ділянки шкіри і акуратно втирають. При необхідності можна покривати уражені ділянки марлевими пов'язками. Після кожного застосування назальної мазі слід протягом 1 хв м'яко масажувати ніс для забезпечення максимального проникнення препарату до задньої стінки глотки. Не рекомендується одночасне використання назального мупіроцину та інших препаратів, що вводяться інтраназально [59].

Побічні реакції. При зовнішньому застосуванні: сухість шкіри, печіння, свербіж, біль, висип, гіперемія, набряк. При інтраназальному введенні: кашель, розлади дихання, біль у вусі, головний біль, фарингіт, риніт, зміна смаку.

Застосування. Інфекції шкіри: фурункульоз, фолікуліт, імпетиго, рожа, трофічні виразки, інфікована екзема, у тому числі викликані MRSA, зовнішній отит (крім злоякісного), профілактика бактеріальних інфекцій шкіри при ранах, саднах, опіках, ерадикація інтраназального носійства MRSA у дорослих пацієнтів і медичного персоналу.

Резистентність. Вторинна резистентність мікроорганізмів до мпіроцину розвивається рідко. За рівнем стійкості до антибіотика виділяють 2 популяції стафілококів: з низьким і високим рівнем резистентності. Низький рівень резистентності виникає в результаті мутацій. Вона носить стабільний характер і не передається іншим штамам. Не виключається можливість існування інших механізмів резистентності, проте до цього часу не описана ферментативна інактивація мупіроцину. Високий рівень резистентності обумовлений передачею спеціального гена локалізованого на плазміді, від невідомого джерела [2,3,4].

Фармацевтичні характеристики. Білий порошок, розчинний в ацетоні, етанолі, метилхлориді, малорозчинний у воді; рН 3,5 – 4,0; питома оптичне обертання 5 % розчину препарату в метанолі від -17° до -21° . Зберігають у щільно закупореному контейнері, у захищеному від світла місці.

Ідентифікують за ІЧ-спектром поглинання субстанції. Кількісно визначають методом рідинної хроматографії із спектрометричним детектуванням.

Упаковка. Крем в алюмінієвих тубах з поліпропіленовими кришками по 15 грамів, поміщений в картонну упаковку [59,60,61].

РОЗДІЛ 3. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

3.1. Обґрунтування вибору біологічного та поживного середовища для його культивування

Природні поверхнево-активні сполуки (біоповержнево-активні речовини) виробляються найрізноманітнішими бактерій та грибів. Вони мають властивість знижувати поверхневий натяг і тим самим підвищувати розчинність погано розчинних сполук. Широкий спектр мікробних сполук, включаючи гліколіпіди, ліпопептиди та жирні кислоти володіють поверхневою активністю. Порівняно з синтетичними ПАР, біоповержнево-активними речовинами мають вищу поверхневу активність, меншу токсичність та кращу екологічну сумісність.

Даний розділ призначений порівняльній характеристиці двох штамів-продуцентів антибіотика мупіроцину (псевдомонової кислоти) *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586 та *Pseudomonas sp.* NCAIM(P)B 001235. В таблиці 2.1.1 здійснюється порівняння продуцентів за такими показниками: склад поживного середовища, концентрація цільового продукту, тривалість процесу культивування, температура культивування та рівень рН. За даними таблиці склад поживного середовища обох продуцентів відрізняється несуттєво, в обох поживних середовищах використовується соєве борошно, кукурудзяний екстракт, глюкоза. Тривалість культивування *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586 – 50 годин, *Pseudomonas sp.* NCAIM(P)B 001235 – 64 години. Найнижча концентрація цільового продукту спостерігається в *Pseudomonas sp.* NCAIM(P)B 001235, яка складає 2,056 мг/л.

Отже, враховуючи ці дані можна зробити висновок, що штам *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586 є кращим, тому що вихід антибіотику в нього вищий за менший час культивування (50 год) [5,6].

					НУХТ БТЕК 02.02.13 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Стариченко К.М.			ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТУ	Лім.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Пенчук Ю.М.					35	6
Реценз.								40
Н. Контр.						<i>Кафедра БТМ</i>		
Затверд.		Стабніков В.П.						

Таблиця 2.1

Порівняння продуцентів антибіотику мупіроцину

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Тривалість культивування, год	Концентрація цільового продукту, мг/л	Температура культивування, °С	Рівень рН	Використана література
<i>Pseudomonas fluorescens</i> NCIMB 10586	Соеве борошно – 20; Кукур. екстракт – 2,5; Глюкоза – 100; Натрій фосфорнокислий 2-заміщений – 2,5; Сульфат амонію – 9; Сульфат магнію – 0,5; Карбонат кальцію – 2.	50	2,5	25	7	1
<i>Pseudomonas</i> sp. NCAIM(P)B 001235	Декстроза моногідрат – 20; соєве борошно – 50; гліцерин – 10; кукурудзяний екстракт – 5; натрій хлорид – 5; калій хлорид – 4; соняшникова олія – 10.	64	2,056	25	6,5	2

Примітка*:

1. Sian M. Cooper, Russell J. Cox, John Crosby, Matthew P. Crump, Joanne Hothersall, Wanpen Laosripaiboon. Mupirocin W, a Novel Pseudomonic Acid Produced by Targeted Mutation of the Mupirocin Biosynthetic Gene Cluster / School of Chemistry, University of Bristol, Cantock's Close, Bristol, BS8 1TS, UK. // . – 2002. – 1-XX. – P. 1 – 2
2. Patent N: US 7,439,045 B2. PH CONTROLLED FERMENTATION PROCESS FOR PSEUDOMONIC ACID PRODUCTION. / Eva Gulyas, Debrecen, Gabor Balogh, Janos Erdei, Peter Seress. // . – Publication data: feb. 6, 2003.

Таблиця 2.2

Вартість компонентів поживного середовища для культивування

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента поживного середовища, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1л середовища	Використана література
<i>Pseudomonas fluorescens</i> NCIMB 10586	Соеве борошно – 20	13,94	0,28	5
	Кукурудзяний екстракт –2,	249	0,5	6
	Глюкоза – 100	129,32	12,93	4
	Натрій фосфорнокислий 2-заміщений – 2,5	89,04	0,22	3
	Сульфат амонію – 9	21	0,19	3
	Сульфат магнію – 0,5	9	0,005	3
	Карбонат кальцію – 2	32	0,06	3
<i>Pseudomonas</i> sp. NCAIM(P)B 001235	Декстро́за моногідрат (глюкоза) – 20	129,32	2,6	4
	соеве борошно – 50	13,94	0,7	5
	гліцерин – 10	16,80	0,17	3
	кукурудзяний екстракт – 5	249	1,25	6
	натрій хлорид – 5	11,5	0,06	8
	калій хлорид – 4	9,60	0,04	3
	соняшникова олія – 10	22	0,22	7

Примітка. * Ціни наведено станом на грудень 2022 р.

1 – <https://kiev.prom.ua/>, 2 – <https://dnepropetrovsk.flagma.ua/>, 3 – <https://ukrchemgroup.com/>, 4 – <https://centrbio.com.ua/>, 5 – <https://him-component.com.ua/>, 6 – <https://ukrchemgroup.com/>.

Таблиця 2.3

Умовна вартість 1 г цільового продукту

Продуцент	Вартість 1 л середовища, грн.	Концентрація цільового продукту, г/л	Умовна вартість 1 г цільового продукту, грн.	Тривалість культивування, год	Концентрація цільового продукту синтезованого за 1 год, г/л
<i>Pseudomonas fluorescens</i> NCIMB 10586	14,185	2,5	5,674	50	0,05
<i>Pseudomonas</i> sp. NCAIM(P)B 001235	5,04	2,056	2,451	64	0,03

Отже, узагальнивши всі дані робимо висновок, що кращим є використання *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586. Так як тривалість культивування у *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586 нижча ніж у продуцента *Pseudomonas* sp. NCAIM(P)B 001235, а концентрація цільового продукту синтезованого за одну годину вища..

3.2 Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента.

P. fluorescens. Дрібні палички (1-2×6 мкм), рухливі, мають 2-4 полярних джгутика. Грамнегативні бактерії [62].



Рис. 3.1 *P. fluorescens*

Культури бактерій утворюють зеленувато-жовтий флуоресцентний пігмент, який проникає в субстрат. Представники цього виду не синтезують піоціанін; добре розвиваються на органічних і синтетичних середовищах.

Колонії безбарвні або білі, опуклі, гладкі, блискучі. Характерною особливістю цього виду є зовнішня мікроструктура колоній: при малому збільшенні мікроскопа поверхня колоній має характерну сітчасту або пористу будову [62].



Рис 3.2 Колонії *P. fluorescens* на поживному середовищі.

У бульйоні бактерії утворюють каламуть і плівку. Розріджують желатин, молоко не згортають, відновлюють нітрати до нітритів, утворюють кислоту на глюкозі і сахарозі; аероби. Оптимальна температура росту близько 25 °С. Бактерії часто зустрічаються у воді, ґрунті, на різних рослинних і тваринних субстратах; непатогенні для тварин.

Розмноження здійснюється бінарним поділом, з однієї материнської клітини утворюється 2 дочірні клітини [62].

3.3 Таксономічний статус біологічного агента

Домен: Бактерії

Тип: Протеобактерії

Клас: *Gamma*proteobacteria

Порядок: *Pseudomonadales*

Семейство: *Pseudomonadaceae*

Рід: Псевдомонади

Вид: *Pseudomonasfluorescens*.

РОЗДІЛ 4. ТЕХНІКО – ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

4.1. Потреба у цільовому продукті

Мупіроцин («Бактробан») - це виділена з культури *Pseudomonas fluorescens* і очищена псевдомонієва (монокарбохінова) кислота.

Інфекційні захворювання шкіри — серйозна соціально-економічна та медична проблема, розв'язання якої значною мірою залежить від рівня життя населення, екології, наукових досягнень у дерматології та використання їх у медичній практиці. Важлим серед причин поширення інфекційних захворювань шкіри є погіршення екологічної ситуації в Україні, зниження загального національного імунітету, зростання кількості агресивних штамів мікроорганізмів. До того ж за останнє десятиріччя знизилася санітарна грамотність населення, через що хворі пізно звертаються до лікаря, внаслідок чого розвиваються хронічні форми хвороб [1,2,3].

Запальні захворювання шкіри — досить поширена проблема, що доставляє хворому безліч неприємностей як косметичного, так і медичного характеру. Найчастіше запалення шкірних покривів мають інфекційну природу, що призводить до появи гнійників. В даному випадку доводиться говорити про гнійно-запальні захворювання — великої групи хвороб шкіри, що супроводжуються гострим або хронічним запальним процесом з наявністю гнійного вогнища.

Антимікробна активність. Спектр дії - вузький, препарат впливає на метицилінрезистентні (*S. aureus* і *S. epidermidis*) і метицилінчутливі стафілококи, а також на стрептококи (зокрема, *Str. pyogenes* і ін.).

Важливо, що мупіроцин практично не активний проти представників нормальної мікрофлори шкіри (мікрококів, корінебактерій і пропіонібактерій), які є природним захисним бар'єром макроорганізму.

					НУХТ БТЕК 02.02.13 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Стариченко К.М.			Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Пенчук Ю.М.				41	13
Реценз.					46		
Н. Контр.					Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В.П.					

Механізм дії. Препарат має унікальну хімічну будову і механізм дії, які відрізняють його від всієї решти відомих антимікробних речовин. Він містить бічний ланцюг з короткої жирної кислоти, сполучений ефірним зв'язком з монієвою кислотою.

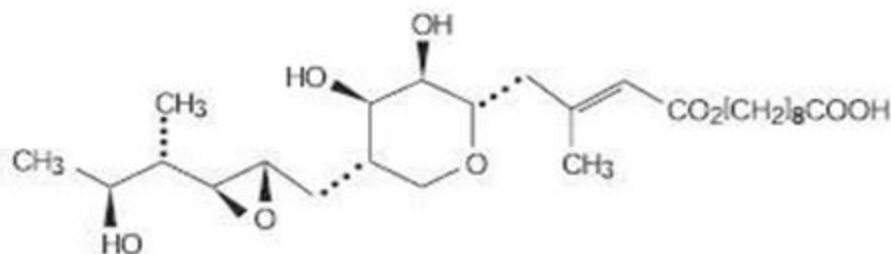


Рис.4.1 Хімічна структура мупіроцину

Молекулярна маса мупіроцину – 500,63 г/моль.

Термінальна частина молекули монієвої кислоти має велику структурну схожість з амінокислотою ізoleyцином. Зв'язуючись з ферментом ізoleyцил-тРНК-синтетазою (IC), мупіроцин блокує утворення з відповідної амінокислоти і тРНК комплексу ізoleyцил-тРНК.

Мупіроцин має бактеріостатичну дію при низьких концентраціях, близьких до МПК. Бактерицидний ефект розвивається при місцевому застосуванні протягом 24-36 годин, в результаті створення дуже високих концентрацій (20 000 мг/л) антибіотика [1,2,3].

Фармакокінетика. Мупіроцин у вигляді мазі застосовують тільки місцево: наносять на шкіру. Препарат не має запаху і не залишає плям на одязі, легко наноситься і змивається при необхідності; його активність не збільшується при зниженні рН середовища, що є безперечною перевагою при лікуванні інфекцій шкіри і м'яких тканин (враховуючи низькі значення рН шкіри). Мупіроцин практично не абсорбується з поверхні непошкодженого шкірного покриву, проте ступінь його всмоктування може збільшуватися за наявності пошкоджень. Препарат добре проникає в поверхневі шари шкіри, де тривало і стабільно зберігається. Мупіроцин метаболізується у шкірному

покриві до свого неактивного метаболіту названого монієвою кислотою (яка не має антибактеріальної активності).

Місце в антимікробній терапії. Первинні інфекції шкіри (імпетиго, фолікуліт, фурункульоз, ектима). Повторно інфікована екзема, псоріатичні ураження, опіки, рани і виразки. Стафілококове носійство в лікарнях, включаючи метицилінрезистентні штами. Стафілокок, що міститься на шкірі пацієнта або медперсоналу, може стати причиною інфікування хірургічних ран, рецидиву стафілококового фурункульозу. Профілактика катетер-асоційованих інфекцій (обробка шкіри навколо катетерів).

Стафілококові ураження

До поверхневих стафілококових захворювань шкіри можна віднести остіофолікуліт, поверхневий фолікуліт, імпетиго (в тому числі і булезне), а також вульгарний сикоз, який протікає в хронічній формі. До глибоких стафілококових уражень шкіри належать глибокий фолікуліт, фурункул (і фурункульоз, який протікає в хронічній формі), карбункул і гідраденіт.

Кожен з видів гнійно-запального захворювання (стафілококовий, стрептококовий або змішаний) може протікати в поверхневих і глибоких шарах шкіри. При поверхневих гнійно-запальних захворюваннях уражаються епідерміс і верхній шар дерми, а при глибоких — патологічний процес захоплює і гиподерму [3].

Стрептококові ураження

До поверхневих гостро протікаючих стрептококових гнійно-запальних захворювань шкіри належать стрептококовий імпетиго і попрілості. Глибокі стрептококові ураження включають в себе ектиму і бешихове запалення.

Стрептостафілококові ураження шкіри

До гострих стрептостафілококових захворювань шкіри можна віднести вульгарне імпетиго, що протікає поверхово, і вульгарну ектиму, що зачіпає глибокі шари шкіри [2].

Методом економічного аналізу, використовуючи максимально наближені до істини цифри (оскільки надійних статистичних даних щодо АЗ

в Україні немає), отримано: хворих на піодермію в Україні є приблизно 29% від загальної кількості населення (піодермії — одне з найбільш частих проявів стафілококових інфекцій, які нерідко приймають затяжний перебіг і призводять до втрати працездатності, а іноді до інвалідності.)

Гнійничкові захворювання шкіри — група гострих і хронічних, поверхневих і глибоких процесів, що викликаються гноєтворними коками (стафілококи, стрептококи) [3].

Резистентність. Вторинна резистентність мікроорганізмів до мупіроцину розвивається рідко.

За рівнем стійкості до антибіотика виділяють дві популяції стафілококів: з низьким і високим рівнем резистентності.

Низький рівень резистентності виникає в результаті мутацій. Вона носить стабільний характер і не передається іншим штамам. Не виключається можливість існування інших механізмів резистентності, проте до теперішнього часу не описана ферментативна інактивація мупіроцину.

Високий рівень резистентності обумовлений передачею спеціального гена (він одержав назву тирА), локалізованого на плазміді, від невідомого джерела. Можливо, такою екологічною нішею є хронічні виразки, колонізовані *P. fluorescens* або іншими псевдомонадами, які продукують мупіроциноподібні речовини.

Перехресної стійкості мупіроцину з іншими антимікробними препаратами не виникає, що, мабуть, обумовлено механізмом його дії.

Побічні ефекти. Рідко - алергічні реакції (свербіння, висип); відчуття печії в місці нанесення мазі; нефротоксичність (виникає при використуванні мазі на поліетиленглікольовій основі у пацієнтів з обширними відкритими пошкодженнями шкіри або при опіках).



Рис.4.2 Лікарський препарат «Бактробан»

Спосіб застосування та дози ЛЗ: дорослим, дітям та хворим похилого віку рекомендовано застосовувати 2-3 р/добу (невелика кількість мазі тонким шаром наноситься на уражену ділянку шкіри, можна накладати під пов'язку) протягом 10 днів.

Станом на 1 серпня 2021 року за даними Укрстандарту чисельність населення України склала 40643920 постійних жителів [3].

20% людей хворіють на піодермію.

$$40643920 - 100\%$$

$$X - 20\%$$

$$X = 8128784$$

Отже, 8128784 людей які хворіють на піодермію. Для лікування можна використати такий препарат як «Бактробан». Припустити, що лікуватися цими препаратами захоче 5% людей (тому що люди мало, що знають про даний препарат, оскільки він недавно з'явився на фармацевтичному ринку, не довіряють закордонним виробникам, віддають перевагу місцевим виробникам лікарських засобів).

$$8128784 \times 0,05 = 40643,9 \text{ людей.}$$

Препарат «Бактробан» випускають у вигляді мазі для зовнішнього застосування 2% по 5 г або 15 г в алюмінієвих тубах.

Застосування: зовнішньо, невелика кількість мупіроцину наноситься на уражену поверхню шкіри. Зверху може бути накладена пов'язка. Після нанесення препарату на шкіру слід ретельно вимити руки. Застосовувати 2 рази на добу тривалістю до 10 днів залежно від тяжкості ураження. Нанести

невелику кількість мазі, обсягом приблизно 30 мг (0,03 г). У разі відсутності ефекту після 5 днів лікування рекомендується переоцінити подальшу тактику лікування з урахуванням динаміки клінічних показників;

Діти: обмежень не потрібно. Ефективність та безпека мазі вивчалася у пацієнтів від 2 місяців у рамках фундаментальних клінічних програм [5].

Отже, для однієї людини кількість препарату на курс лікування становить:

$$0,03 \times 20 = 0,03 \text{ г.}$$

Отже щоб забезпечити людей потрібно:

$$40643,9 \times 0,03 = 125,2 \text{ кг препарату.}$$

4.2. Розрахунок потужності виробництва

Підприємство яке здійснює випуск «Бактробану», відомого ще під назвою мупіроцин, «Smith Kline Beecham Pharmaceuticals» («Смит Кляйн Бичам»), Великобританія. Представництво «SmithKlineBeecham Pharmaceuticals» в Україні місто Київ. Отже, для забезпечення потреб населення необхідно виготовляти 125,2 кг препарату. Згідно з постановою МОЗ України 29.09.14 №677 тимчасово заборонена реалізація імпортного препарату «Бактробан» на території України у зв'язку з можливим фізичним забрудненням основного компоненту мупіроцину калцієм, що був використаний при виробництві даного препарату.

До складу антибактеріального препарату «Бактробан» входить активна речовина, антибіотик широкого спектру дії – мупіроцин, призначений спеціально для зовнішнього вживання. Активна речовина впливає переважно на синтез білків в клітинах бактерій. При застосуванні в мінімальних концентраціях мупіроцин здійснює бактеріостатичну дію, а в підвищених концентраціях – бактерицидну дію [4,5].

Аналоги препарату «Бактробан»

Для лікування різних захворювань шкіри створені аналоги препарату «Бактробан» - «Мупіроцин» і «Супіроцин» (виробник Великобританія),

Гексаліз (виробник Франція). Хоча препарати аналогічної дії лікують ті ж хвороби і з тими ж симптомами, що й основний лікарський засіб, заміну один на інший не можна проводити без узгодження з лікарем.

У Росії виробляються аналоги «Бактробану», які мають той же спектр дії, що й основний препарат. До них відносяться мазі місцевого застосування, такі як «Левоміцетин», «Левомеколь», «Левосин» [4].

В Україні з аналогів «Бактробану» виготовляють «Гентаміцин», «Левоміцетин», «Хитозан-гент», «Синтоміцин». Поставка готового препарату та аналогів складає близько 10 %. Отже, загальна потреба українців 12,25 кг препарату. Державі, щоб забезпечити населення власним препаратом потрібно виготовляти:

$$G_{\text{гп}} = 125,2 \times 0,1 = 12,25 \text{ кг препарату.}$$

Згідно з інструкцією про застосування лікарського препарату, 1 г мазі містить 20 мг мупіроцину. Кількість діючого компонента мупіроцину, необхідного для отримання 12,25 кг препарату становить:

$$1 \text{ г мазі} - 0,02 \text{ г мупіроцину}$$

$$12250 \text{ г мазі} - X \text{ г мупіроцину}$$

$$X = 24,5 \text{ г мупіроцину.}$$

Кількість культуральної рідини, необхідної для отримання 24,5 г (0,024 кг) мупіроцину:

Продуцент основного діючого компонента мупіроцину – *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586, продуктивність якого складає 2,5 мг/л.

$$0,0025 \text{ г} - 1 \text{ л}$$

$$24,5 \text{ г} - X \text{ л}$$

$$X = 9800 \text{ л. (приблизно } 9,8 \text{ м}^3)$$

4.3 Розрахунок кількості річних виробничих циклів для отримання річної потреби в цільовому продукті

Припустимо, що кількість робочих днів становить 330. Тривалість циклу (обороту) одного ферментера складається з блоків стандартних робіт підготовчого характеру та основного виробництва, а саме:

- тривалість виробничої ферментації – 50 год;
- злив (вивантаження) культуральної рідини – 3 год;
- миття ферментеру – 2,5 год;
- перевірка ферментеру на герметичність – 1,5 год;
- стерилізація ферментеру – 1,5 год;
- заповнення ферментеру поживним середовищем – 1,5 год;
- засів посівним матеріалом – 0,5 год.

З вище наведених даних можна зробити висновок, що для даного виробництва час основної ферментації буде складати 50 год, а час підготовки ферментера – 10 год. Загальний час роботи ферментера – 60,5 год.

0,0025 г/л – антибіотику продукується штамом *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586 [5].

$G_{нт} = 12,25$ кг – потужність виробництва;

$T_{рд} = 330$ – кількість робочих днів;

$T_{цф} = 60,5$ – час циклу роботи ферментера;

$E_{св} = 0,2$ – втрати продукту під час переробки;

K_1 (коефіцієнт запасу) = 1,1-1,5; приймаємо 1,1.

$СР_{гп} = 0,94$ – кількість сухих речовин в готовому продукті.

Кількість культуральної рідини, що отримують за цикл:

$$X = 330 / 60,5 * 24 = 130 \text{ циклів}$$

4.4 Розрахунок та геометричний об'єм ферментера

Для забезпечення населення України препаратом, потрібно 12,25 кг мупіроцину.

Розрахуємо, скільки мупіроцину потрібно отримати за цикл ферментації, аби розрахувати кількість стадій приготування посівного матеріалу.

Приймаємо кількість робочих трудоднів ($T_{рд}=330$), тоді кількість мупіроцину на добу ($G_{нтд}$) становитиме:

$$G_{нтд} = G_{нт}/T_{рд} = 12,25/330 = 0,037 \text{ кг}$$

Кількість продукту за добу з урахуванням втрат за виробничий цикл:

$$G_{пд} = G_{нтд}/(1-E_{св}) = 0,037/(1-0,2) = 0,046 \text{ кг}$$

Кількість мупіроцину за цикл ($G_{цк}$) буде становити:

$$G_{цк} = G_{пд} \cdot T_{цф}/24 = 0,046 \cdot 60,5/24 = 0,116 \text{ кг/цикл,}$$

де $T_{цф}$ – цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (50 год) та час підготовки ферментера до роботи (10,5 год).

Кількість культуральної рідини на один цикл ферментації:

$$V_{кр} = G_{цк} \cdot C_{Ртп} \cdot K_1/R_{кр} = 0,116 \cdot 0,95 \cdot 1,1/0,025 = 4,89 \text{ м}^3,$$

де $C_{Ртп}$ – вміст сухих речовин в готовому продукті, K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій ($K_1 = 1,1 \div 1,5$), $R_{кр}$ – концентрація цільового продукту.

Об'єм ферментера, враховуючи втрати культуральної рідини при культивуванні:

$$V_{ф} = V_{кр}/(1-E_{ф}) = 4,89/(1-0,2) = 6,113 \text{ м}^3$$

Для визначення геометричного об'єму ферментера потрібно мати величину коефіцієнта заповнення ($K_{зап}$), приймаємо її за 0,6.

$$V_{гф} = V_{ф}/K_{зап} = 6,113/0,6 = 10,19 \text{ м}^3$$

У додатку знаходимо найближчий за геометричним об'ємом ферментер $V_{ф} = 10 \text{ м}^3$.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$K_{зф} = G_{цк}/V_{ф} = 6,113/12,5 = 0,489$, що не перевищує заданого значення.

4.5 Розрахунок кількості стадій посівного матеріалу

За виробничий цикл отримують $V_{кр} = 4890$ л культуральної рідини.

При одержанні культуральної рідини потрібно врахувати її втрати при біосинтезі, які становлять від 10 до 20 %.

Таким чином кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед виробничим біосинтезом становитиме:

$V_{роб.1} = V_{кр}/(1 - E_{ф}) = 4890/(1 - 0,2) = 6112,5$ л, де $E_{ф}$ – втрати культуральної рідини під час біосинтезу.

Виробничий біосинтез здійснюють у ферментері з робочим об'ємом $V_{роб.1} = 6112,5$ л.

Приблизний геометричний об'єм ферментера при вибраному коефіцієнті заповнення ($K_{зап} = 0,6$) складе:

$$V_{ф} = V_{роб.1}/K_{зап} = 6112,5/0,6 = 10,19 \text{ м}^3.$$

З таблиці стандартних обираємо найближчий за об'ємом ферментер $V_{сф} = 2 \text{ м}^3$, та перевіряємо обраний коефіцієнт заповнення:

$$K_{зап1} = V_{роб.1}/V_{сф} = 6112,5/12500 = 0,489.$$

Доза посівного матеріалу для ферментера становить 10% від об'єму поживного середовища.

Тоді кількість поживного середовища в ферментері буде становити:

$V_{пс1} = V_{роб.1}/(1 + X_{ф}) = 6112,5/(1 + 0,1) = 5556,8$ л, де $X_{ф} = 0,1$ – доза посівного матеріалу для ферментера.

Кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{пм1} = V_{роб.1} - V_{пс1} = 6112,5 - 5556,8 = 555,7 \text{ л}.$$

Для одержання 555,7 л посівного матеріалу в інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять 10%.

Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу в посівному апараті становитиме:

$$V_{роб.2} = V_{пм1} / (1 - E_{ін}) = 555,7 / (1 - 0,1) = 617,4 \text{ л.}$$

Кількість поживного середовища в посівному апараті становитиме:

$$V_{пс2} = V_{роб.2} / (1 + X_{ін}) = 617,4 / (1 + 0,1) = 561,3 \text{ л, де } X_{ін} = 0,1 \text{ – доза посівного матеріалу для інокулятора.}$$

Кількість посівного матеріалу для посівного апарату становить:

$$V_{пм2} = V_{роб.2} - V_{пс2} = 617,4 - 561,3 = 56,1 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту $V_{роб.2} = 617,4$ л можна одержати під час культивування бактерій у посівному апараті геометричним об'ємом $V_{па2} = V_{роб.2} / K_{зап} = 617,4 / 0,6 = 1029$ л. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{сф} = 1250$ л, уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення.

$$K_{з1} = V_{роб.2} / V_{сф} = 617,4 / 1250 = 0,494.$$

Для одержання 51,6 л посівного матеріалу в інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиному через колектор відпрацьованого повітря, які становлять 10%.

Тоді кількість посівного матеріалу та поживного середовища перед культивуванням в інокуляторі становитиме:

$$V_{роб.3} = V_{пм2} / (1 - E_{ін}) = 51,6 / (1 - 0,1) = 62,3 \text{ л.}$$

Кількість посівного матеріалу (доза) становить 10% від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища в інокуляторі буде:

$$V_{пс3} = V_{роб.3} / (1 + X_{ін}) = 62,3 / (1 + 0,1) = 56,7 \text{ л, де } X_{ін} \text{ – доза посівного матеріалу для інокулятора.}$$

Кількість посівного матеріалу для інокулятора становить

$$V_{пм3} = V_{роб.3} - V_{пс3} = 62,3 - 56,7 = 5,6 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту $V_{роб.3} = 62,3$ л можна одержати під час культивування бактерій в інокуляторі геометричним об'ємом

$$V_{ін3} = V_{роб.3} / K_{зап} = 62,3 / 0,6 = 103,8 \text{ л.}$$

Підбираєм найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{сф} = 160$ л.

Уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{з1} = V_{роб.3} / V_{сф} = 62,3 / 160 = 0,4.$$

Для одержання 5,6 л посівного матеріалу в інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиному через колектор відпрацьованого повітря, які становлять 10%.

Тоді кількість посівного матеріалу та поживного середовища перед культивуванням в інокуляторі становитиме:

$$V_{роб.4} = V_{пм3} / (1 - E_{ін}) = 5,6 / (1 - 0,1) = 6,2 \text{ л.}$$

Кількість посівного матеріалу (доза) становить 10% від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища в інокуляторі буде:

$V_{пс4} = V_{роб.4} / (1 + X_{ін}) = 6,2 / (1 + 0,1) = 5,6$ л, де $X_{ін}$ – доза посівного матеріалу для інокулятора.

Кількість посівного матеріалу для інокулятора становить

$$V_{пм4} = V_{роб.4} - V_{пс4} = 6,2 - 5,6 = 0,6 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту $V_{роб.3} = 6,2$ л можна одержати під час культивування бактерій в інокуляторі геометричним об'ємом

$$V_{ін4} = V_{роб.4} / K_{зап} = 6,2 / 0,6 = 10,3 \text{ л.}$$

Підбираєм найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{сф} = 20$ л.

Уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{з4} = V_{роб.4} / V_{сф} = 6,2 / 20 = 0,3.$$

Кількість інокуляту для засіву малого інокулятора $V_{пм4} = 0,6$ л можна одержати культивуванням бактерій у колбах на качалці. Для цього використовують качалочні колби об'ємом $V_{колб} = 500$ мл та коефіцієнтом заповнення $K_{зк} = 0,2$.

Тоді кількість колб для одержання посівного матеріалу становитиме:

$$N_{колб} = V_{пм4} / (V_{колб} \times K_{зк}) = 600 / 500 \times 0,2 = 6.$$

Таким чином для одержання посівного матеріалу необхідно 6 качалочних колб.

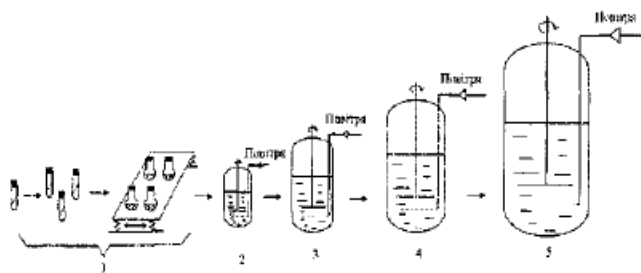


Рис. 4.2. Схема приготування посівного матеріалу *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586: 1 – вирощування в лабораторії (на скошеному агарі в пробірках і в колбах на качалці); 2 – 4 – вирощування в інокуляторах об'ємом (м³): 2 – 0,01 м³; 3 – 0,1 м³; 4 – 1 м³, 5 – 10 м³

РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

5.1. Обґрунтування способу культивування

Оскільки оптимальною температурою для культивування аеробного штаму *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586 є 25 °С, а оптимальним значенням рН нейтральне, то можливий ризик контамінації сторонніми мезофільними і нейтрофільними мікроорганізмами. Це зумовлює необхідність забезпечення асептичних умов під час біосинтезу, чого неможливо досягти при поверхневому культивуванні. Асептичні умови забезпечуються стерилізацією обладнання і комунікацій, поживного середовища, аераційного повітря. Для запобігання контамінації в ферментері створюється надлишковий тиск.

У зв'язку з вище сказаним можна зробити висновок, що культивування *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586 продуцента мупіроцину повинно здійснюватися глибинним способом. Глибинне культивування мікроорганізмів має ряд переваг перед поверхневим і дозволяє:

1. значно зменшити виробничі площі;
2. повністю автоматизувати і механізувати процес;
3. перейти на безперервне культивування;
4. покращити санітарно – гігієнічні умови праці;

Незважаючи на суттєві переваги безперервного культивування перед періодичним, біосинтез мупіроцину здійснюється у періодичному процесі, оскільки максимальний синтез антибіотика відбувається у стаціонарній фазі росту продуцента. Отже, «підтримання» штаму-продуцента в експоненційній фазі росту є недоцільним, так як у цьому разі спостерігатиметься зниження концентрації антибіотику у культуральній рідині [5,7,8].

					НУХТ БТЕК 02.02.13 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Стариченко К.М.			ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Пенчук Ю.М.					54	19
Реценз.						Кафедра БТМ ⁵⁹		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

5.2 Обґрунтування стадії підготовки виробничих приміщень, вибору мийних та дезінфікувальних засобів

Хлорантоїн – хлорактивний, багатокомпонентний, дезінфекційний засіб з мийним ефектом (ТУ У 22902465.004-95). Рекомендований МОЗ України та затверджений до застосування Головним державним санітарним лікарем України та начальником Головного управління ветеринарної медицини. Хлорантоїн має бактерицидні, туберкулоцидні, вірулицидні спороцидні і фунгіцидні властивості.

Хлорантоїн видаляє білкові, жирові забруднення, залишки крові, залишки лікарських засобів із зовнішніх поверхонь, внутрішніх каналів та порожнин біотехнологічних апаратів.

За дезінфекційною активністю хлорантоїн перевершує в 5-10 разів звичайні дезінфікуючі засоби і виключає застосування лужних миючих засобів. Використання хлорантоїну дозволяє поєднати в одній операції стадії миття, дезінфекції та предстерілізації, скоротити тривалість санітарної обробки [8,11].

Гарантійний термін зберігання 3 роки з дати виготовлення. Зберігають в пакуванні виробника у критих складських приміщеннях не більше ніж у 3 яруси осторонь від джерел відкритого вогню та тепла.

Каустична сода (їдкий натр, NaOH). Це безбарвна кристалічна речовина. Гігроскопічна. Добре розчиняється у воді. Водні розчини мають лужну реакцію. Гарячі (1-2) % розчини каустичної соди добре обмилюють жири, гідролізують білки, розщеплюють вуглеводи. Засіб характеризується тими ж властивостями, що і кальцинована сода, проте належить до високонебезпечних речовин (2 клас небезпеки по ГОСТ 12.1.007). При

попаданні на шкіру викликає хімічний опік. Подразнює слизову оболонку очей та верхніх дихальних шляхів [10].

Біомой – миючий засіб, що містить синтетичні поверхово-активні речовини та протеолітичні ферменти (лужна фосфатаза). Являє собою порошок світлого кольору (від білого до світло-жовтого). Розчинність у воді становить не менше 30 г/дм³ при 20 °С. Водні розчини Біомою безбарвні, прозорі, виявляють миючі, емульгуючі та диспергуючі властивості, легко видаляють білково-жирову плівку з поверхонь технологічного обладнання, легко змиваються, не залишають нальоту. На відміну від інших засобів, Біомой виявляє високу миючу активність при температурі не вище (40±5) °С. Його розчини не ушкоджують об'єкти з нержавіючої сталі, чорного металу з антикорозійним покриттям, алюмінію, скла, гуми, полімерних матеріалів, кахлю, емалі. Засіб належить до малонебезпечних речовин (4 клас безпеки по ГОСТ 12.1.007), не виявляє кумулятивні та алергенні властивості. У сухому вигляді подразнює шкіру і слизову оболонку очей [63].

Гарантійний термін зберігання 1 рік з дати виготовлення.

Рекомендується 0,5 % розчин Біомою температурою (40±5) °С для ручного миття технологічного устаткування, скляної і полімерної тари та інвентарю, а також (0,15-0,3) % розчини температурою (40±5) °С для циркуляційного миття технологічного обладнання і комунікацій та миття скляної і полімерної тари [66].

Виробництво мупіроцину здійснюється 160 днів (див. розділ 3). Оптимальна площа виробничого приміщення в якому встановлено ферментер (10 м³), інокулятори (1 м³; 0,1 м³, 10 л), збірники, автоклав та інше обладнання, становить 260 м². Висота стін становить 2,5 м. Загальна площа стін становить 310 м². Площа підлоги становить 260 м². Площі поверхонь та об'єкти, що необхідно мити та дезінфікувати наведено в *таблиці 5.1*.

Приблизно на 1 м² витрачається 100 мл робочого розчину мийного чи дезінфікуючого засобу. Для дезінфекції обладнання, інвентаря та комунікацій доцільно використовувати мийний засіб Біомой

багатокомпонентний, поліфункціональний, біоактивний миючий засіб з дезінфікуючим ефектом (ТУ У 22902465.005-96). Рекомендований Міністерством здоров'я України та затверджений до застосування Головним державним санітарним лікарем України.

Таблиця 5.1

Розрахунок загальної площі миття та дезінфекції оброблювального об'єкту за весь період виробництва мупіроцину

Об'єкт миття та дезінфекції	Площа (об'єм) оброблюваного об'єкта, м ² (м ³)	Кількість процесів миття та дезінфекцій за весь період виробництва	Загальна площа миття та дезінфекції об'єкту за весь період виробництва, л
Обладнання, інвентар, комунікації	35 м ³	12	200
Підлога	260	160	4160
Стіни, двері, вікна	310	5	155

Для миття стін, підлоги, вікон та дверей доцільно використовувати Хлорантаїн – хлорвмісний препарат у вигляді розчину, що готується з порошку.

Мийні засоби варто міняти кожна 3 місяці, з метою уникнення розвитку резистентності у штамів мікроорганізмів до цих миючих засобів.

Підлогу необхідно дезінфікувати кожного дня, тому кількість процесів миття буде дорівнювати кількості робочих днів (160 днів). Оскільки, на 1 м² площі необхідно 100 мл засобу, то для дезінфекції підлоги в 260 м² необхідно 26 л засобу для кожної дезінфекції. Для всього періоду виробництва необхідно:

26 л х 160 днів=4160 л дезінфікуючого засобу.

Стіни, вікна та двері необхідно дезінфікувати 1 раз на місяць, тому кількість процесів миття буде дорівнювати 5. Площа дверей, стін та вікон складає 310 м². Оскільки для дезінфекції 1 м² площі необхідно 100 мл засобу, то для 310 м² необхідно 31 л засобу. Для всього періоду виробництва необхідно:

$$31 \cdot 5 = 155 \text{ л дезінфікуючого засобу хлорантоїну.}$$

Дезінфекцію обладнання необхідно проводити після кожного циклу виробничого культивування. Об'єм мийного засобу складає близько половини кожного з відповідних об'ємів обладнання. Отже, для миття ферментера (10000 л), трьох інокуляторів об'ємом (1000 л, 100 л, 10 л), збірників необхідно приблизно 200 л мийного засобу.

Обґрунтування необхідності підготовки приміщень

Виробничі приміщення необхідно проектувати, розташовувати, пристосовувати, оснащувати, обслуговувати таким чином, щоб вони відповідали своєму призначенню, забезпечували можливість проведення ефективного прибирання й експлуатації для запобігання мікробної та перехресної контамінації, а також інших чинників, які можуть негативно вплинути на якість продукції. Приміщення повинні бути спроектовані таким чином, щоб їх можна було легко і ефективно очищати від різноманітних забруднень. Внутрішні поверхні (стеля, стіни, підлога) повинні бути гладенькими, без щілин і тріщин на стиках. Підвісні стелі мають бути герметизовані з метою запобігання контамінації [11].

Підготовка виробничих приміщень— це комплекс заходів щодо забезпечення чистоти і зведення до мінімуму механічних та мікробних забруднень, що складається з вологого прибирання, дезінфекційної обробки, можливого ультрафіолетового опромінення поверхонь приміщень, виконання яких спрямоване на досягнення відповідного класу чистоти. Підготовка виробничих приміщень поділяється на щоденну і генеральну.

5.2 Обґрунтування необхідності підготовки обладнання

Згідно вимог GMP виробниче обладнання не повинно негативно впливати на якість продукції. Частини або поверхні устаткування, що контактують з продукцією, виготовляються з матеріалів, які не вступають з нею в реакцію, не мають абсорбційних властивостей і не виділяють речовин в такій кількості, щоб не могло вплинути на якість продукції. Тому для забезпечення максимальної якості готового продукту технологічне обладнання також повинно проходити певну підготовку. Щоб забезпечити належне очищення обладнання необхідно дотримуватися затверджених на підприємстві методик.

Обладнання, яке використовується для роботи у виробничих приміщеннях, має бути сконструйованим і розміщеним таким чином, щоб його експлуатацію, обслуговування та ремонт можна було б проводити за межами «чистих» зон. Воно також повинно мати реєструючі пристрої для контролю параметрів процесу [66].

Як підготовку обладнання розуміють очищення, миття та дезінфекційну обробку внутрішніх і зовнішніх його поверхонь. Підготовку обладнання проводять до початку або після закінчення технологічної операції, або в кінці зміни.

Для того, щоб очистити ферментер від залишків від попереднього ферментаційного процесу, механічних частинок, пилу, його необхідно помити за допомогою миючих та дезінфікуючих засобів. Механічні забруднення і пил видаляють за допомогою щіток, лопаток, пилососа чи вологої серветки з зовнішніх та внутрішніх поверхонь обладнання. Для усунення рідин можна використовувати засоби для знежирення. Обладнання миють спочатку теплою водою $(45\pm 5)^{\circ}\text{C}$ з мийним засобом, потім промивають водою очищеною і висушують або витирають насухо. Після чого проводять дезінфекційну обробку, протираючи поверхні дезінфекційним розчином. Потім обладнання промивають гарячою водою очищеною. Важливою стадією підготовки обладнання є перевірка його на

герметичність, що здійснюється за допомогою пари. Для очистки від сторонніх мікроорганізмів проводять стерилізацію обладнання.

Є необхідним проведення контролю повноти відмивання технологічного обладнання від дезінфекційного засобу. Після закінчення підготовки обладнання оформляють відповідний протокол, який підписується відповідальними особами за підготовку цього обладнання. Якість підготовки обладнання контролюється представником відділу контролю якості. Обладнання маркують, вказуючи його готовність до роботи. Зберігати обладнання необхідно в чистому та сухому стані[66].

У лабораторіях, в яких проводять мікробіологічний аналіз, засів колб чистою культурою, використовують бактерицидні лампи. Після миття, лабораторію звільняють від персоналу і включають бактерицидні лампи, що знаходяться на стелі, не менше ніж на 30 хвилин. Бактерицидну дію має ультрафіолетове випромінювання з діапазоном довжини хвиль 205-315 нм (найбільш ефективно при довжині хвилі - 254 нм), воно викликає деструктивно-модифікуюче фотохімічне пошкодження ДНК клітинного ядра мікроорганізму.

5.3 Обґрунтування підготовки аераційного повітря

Оскільки для росту продуцента необхідний кисень, важливим є правильна підготовка аераційного повітря (повинно бути стерильним), яке виступає потенційним джерелом забруднення культуральної рідини і відповідно всього виробничого процесу [66].

Оскільки найбільше мікроорганізмів знаходиться над поверхнею землі, то забір повітря будемо здійснювати на висоті приблизно 20-30 м, де їх кількість є сталою. Повітряний компресор засмоктує всередину навколишнє повітря і стискає його для подальшого використання в робочих процесах[66].

Для очистки (стерилізації) повітря, використовують методи фільтрування, а систему підготовки повітря конструюють ступінчастою.

На кожному рівні очищення слід передбачити штуцери з метою відбору

проб повітря для визначення концентрації механічних часток до та після фільтрації.

У відповідності з існуючими стандартами фільтрувальні елементи класифікуються на групи і класи залежно від якості фільтрування (ефективності і проникності):

- фільтри грубої очистки;
- фільтри тонкої очистки;
- індивідуальні фільтри.

Повітряні фільтри використовуються для підтримки заданої чистоти повітря, відповідно до технологічних вимог.

Після забору, повітря потрапляє на фільтр грубої очистки, де досягається ступінь його очищення 80 %. Фільтри грубого очищення застосовуються відразу після забірних решіток повітря та в якості попередньої очистки для систем кондиціонування повітря.

Фільтри грубої очистки можуть мати різну ефективність фільтрації від 65% до 90%, так звана перша ступінь фільтрації. Фільтри грубої очистки призначені для затримки великих механічних частинок розміром більше 5 мкм (пух, листя, волосся, цементний пил і т. ін.). Далі повітря вентилятором подається у теплообмінник, де відбувається його кондиціонування (стабілізуються термодинамічні показники).

Фільтри грубої очистки складаються з каркасу з нержавіючої сталі, в який встановлюється фільтруючий матеріал. Продуктивність по повітряю кожного фільтра не більше 1540 м³/год.

Пропонуються використовувати ячейкові фільтри грубої очистки (зі ступенем очистки 80%) такі як, ФЯУ, ФЯП, ФЯР, ФЯВ, які відрізняються лише типом фільтруючого матеріалу.

Основні типи фільтруючих матеріалів:

- ультраскло,
- хімволокно,
- поліуретан,

- поліестер,
- мельтблоун,
- фільтрувальний папір тощо.

У якості фільтрувального матеріалу ми обираємо поліуретан.

Особливості поліуретану:

- низький початковий опір і висока пиловмісткість,
- екологічно безпечний,
- витримує відновлення,
- нейтральний до дії дезінфікуючих засобів [11].

Фільтри для тонкого очищення повітря найбільш часто застосовують в якості другого ступеня очищення (доочищення). Рекомендується використання модульного картриджного фільтра модель FMW. Це ефективний фільтр, який має компактну конструкцію і ступінь очищення повітря 99%. Продуктивність фільтра складає 2040 м³/год .

Переваги даного фільтра:

- безперервне автоматичне очищення фільтруючих картриджів стисненим повітрям;
- подвійна - дублююча один одного система очищення картриджів за допомогою часового таймера і датчика перепаду тиску;
- ефективність очищення до 99% для часток розміром до 0,5 мікрон;
- легкість в обслуговуванні - необхідно тільки спустошувати пилозбірники,
 - в конструкції використовуються екологічно чисті матеріали;
 - стійка конструкція, винослива до зовнішніх факторів, відмінні аеродинамічні властивості, висока пиломісткість.

Для остаточної очистки повітря від частинок, що містяться в ньому, і мікрофлори застосовують фільтр типу "Лаік". Такі типи складаються з корпусу і фільтрувального матеріалу, який дає змогу уловлювати частинки розміром 0,04-0,06 мкм. Як фільтрувальний матеріал у ньому використовується ультратонке волокно з перхлоровінілової смоли. Цей

матеріал гідрофобний, стійкий до хімічно агресивних середовищ і може експлуатуватися при температурі не вище 60 °C і відносній вологості до 100 %. Ступінь очистки 99,999% [64].

Проаналізувавши вище наведені дані, на першій стадії очистки повітря найдоцільніше для нас буде використовувати фільтри грубої очистки з ефективністю фільтрації 80%. Обираємо фільтр типу ФЯП, на основі особливостей фільтрувального матеріалу. На наступній стадії найкраще буде використати фільтри тонкої очистки картриджного типу, моделі FMW, з ефективністю 99%. Фільтри типу «Лаік» використовують на фінішних стадіях очистки повітря, тобто безпосередньо перед подачею у ферментаційне обладнання. Фільтр затримує більше 99,999% всіх частинок.

5.4. Вибір способу відділення біомаси та обладнання.

Для відділення біомаси застосовуються такі методи:

1. фільтрування;
2. сепарування;
3. центрифугування.

Сепарування – процес відділення твердої фази від рідкої, оснований на відділенні часточок з різними характеристиками. Рушійною силою процесу являється відцентрова сила. Ефективність сепарування пропорційна частоті обертів барабану, діаметру барабану, розміру часток, різниці густин твердої та рідкої фаз. Недоліками є підвищена енергоємність процесу. Даний метод є недоцільним через велику енергоємність та великі затрати, що не вигідно з економічної точки зору і в майбутньому впливатиме на вартість цільового продукту [72].

Центрифугування – процес зневоднення і розділення суспензій на рідку і тверду фази під дією відцентрових сил. Потребує більш дорогого устаткування порівняно з фільтруванням.

Фільтрування – відділення твердої фази від рідкої шляхом проходження через фільтруючий матеріал або через полімерну сітку з

відповідним діаметром отворів. З метою підвищення продуктивності устаткування фільтрації і зниження витрат ручної праці все ширше застосовують фільтри з механізованим зніманням осаду, зокрема барабанні вакуум-фільтри. Вони представляють барабан, занурений нижньою частиною в ємність, куди безперервно поступає культуральна рідина. Поверхня барабана перфорована і обтягнута фільтруючою тканиною, а сам барабан розділений перегородками на секції. Фільтрат, що утворюється, відводиться в збірку, а осад залишається на зовнішній поверхні фільтрувальної тканини. Осад видаляється за допомогою ножа, закріпленого на певній відстані від поверхні барабана. Таким чином, товщина шару осаду в зоні фільтрації практично незмінна, що дозволяє вести процес фільтрації в безперервному режимі при постійній швидкості. [84].

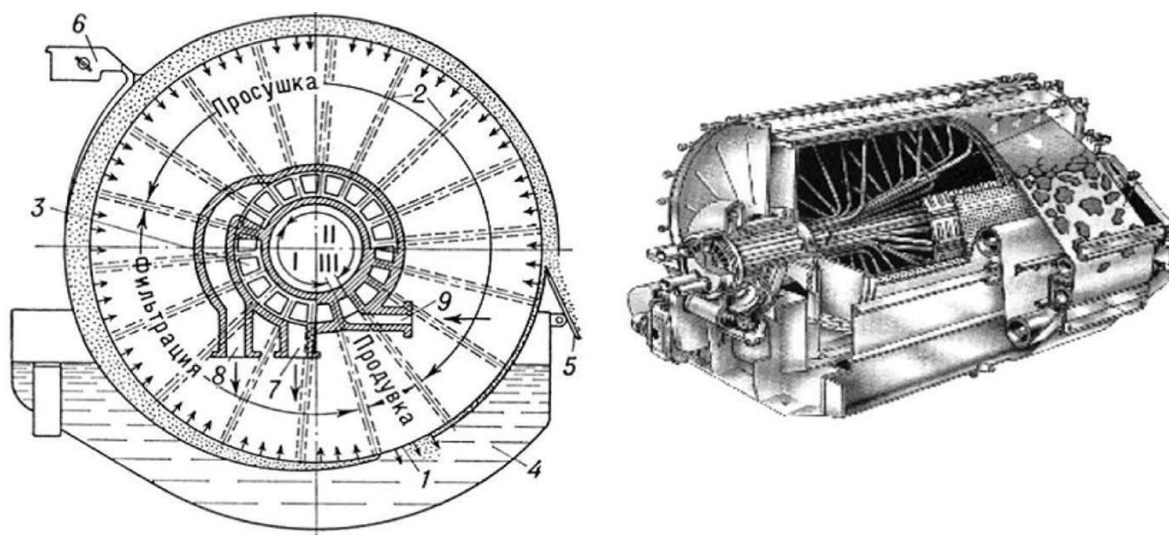


Рис 5.1 Барабанний вакуум-фільтр.

Отже, з вище наведених даних можна зробити висновок, що доцільніше використовувати барабанний вакуум-фільтр для відділення біомаси.

Центрифугування

Перед процесом центрифугування розчин підкислюють 10 % розчином соляної кислоти з метою осадження антибіотика. В результаті підкислення рН буде знаходитися в межах 4.2 – 4.5, перемішують впродовж 30 хв. Отримана суспензія піддається центрифугуванню [78].

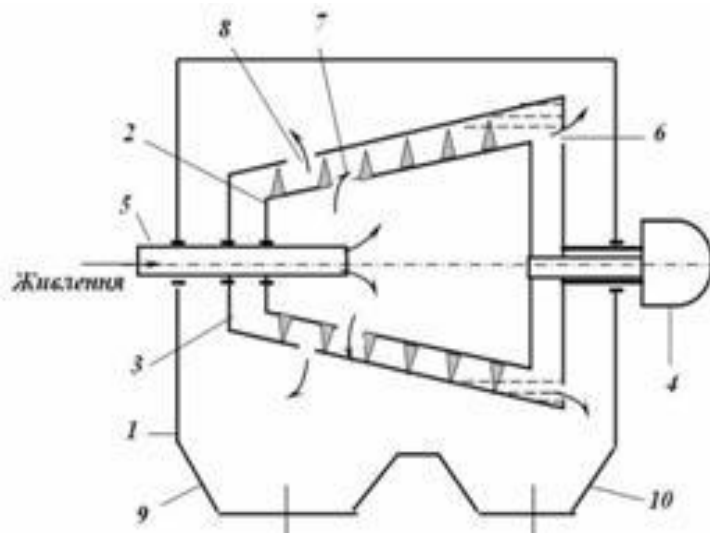


Рис 5.2. Центрифуга з шнековим вивантаженням осаду.

1 – корпус; 2 – шнек; 3 – ротор; 4 – планетарно-диференціальний механізм; 5 – живильна труба; 6 – зливні вікна; 7 – радіальні отвори; 8 – розвантажувальні отвори; 9 – збірник осаду; 10 – збірник фільтрату

Центрифугування проводитиметься в центрифугі зі шнековим вивантаженням осаду. Вихідна речовина завантажувальним пристроєм подається всередину шнека і через отвори в ньому надходить в ротор. В роторі відбувається відцентрове осадження частинок і розділення суспензії на тверду і рідку фази. Тверда фаза шнеком переміщується до розвантажувальних патрубків, через які вона відцентровими силами розвантажувється з ротора. Рідка фаза по спіральних каналах, що створені витками шнека і стінкою ротора, рухається у протилежному напрямку і витікає через зливні вікна.

В результаті центрифугування утворюється в'язка гелеподібна маса яка піддається екстракції.

5.5. Обґрунтування способу екстракції

Після центрифугування в'язка гелеподібна маса з антибіотиком піддається екстракції. Цей процес не потребує значних витрат енергії та не заснований на підвищенні температури і широко застосовується у біотехнологічних процесах. Основні питання які необхідно вирішити для

проведення екстракції – це вибір розчинника, вибір виду, способу екстракції та самого екстрактора.

Обґрунтування вибору розчинника:

Основні вимоги, що висуваються до розчинників:

- Вибірковість стосовно цільового компонента;
- Висока екстракційна ємність за цільовим компонентом;
- Легко здійснювана реекстракція;
- Добре розшарування фаз;
- Безпека при роботі;
- Низька вартість.

Основною ж вимогою до розчинника є його селективна здатність та нерозчинність у суміші, яку ми екстрагуємо [83].

Із літературних джерел відомо, що екстракцію мупіроцину здійснюють різними органічними розчинниками, такими як:

- метилізобутилкетон, хімічний препарат, призначений для хімічного аналізу, прозора водяниста рідина з приємним запахом. Малотоксична. Ціна за один літр – 71,66 грн/л [84].
- етилацетат нетоксична летка речовина з приємним фруктовим ароматом, розпадається при нагріванні, перетворюється на етиловий спирт і оцтову кислоту, з виділенням їдкого диму та подразливої пари. Він вогнебезпечний, пари можуть переміщатися на значну відстань і стати джерелом займання, може викликати «спалах полум'я». Ціна за 1л – 33 грн [85].
- Н-бутанол - являє собою безбарвну, нейтральну, рідину з характерним запахом. Вільно змішується з більшістю основних органічних розчинників. Н-бутанол обмежено розчиняється у воді. Малотоксичний. Ціна за 1 л – 80 грн [86].

Наведені вище розчинники можуть використовуватися в якості екстрагенту. Вони не змішуються з водою, є полярними розчинниками. Тому звертатимемо увагу при виборі екстрагенту на токсичність, вплив на

фармакологічні властивості антибіотику, та на вартість речовини. Етилацетат є вигідним з економічного боку, але він токсичний та потребує засобів індивідуального захисту і обережного поводження, тому використовувати його недоцільно. Доцільним буде використання метилізобутилкетону, який являється малотоксичним і є дешевшим порівняно з н-бутанолом [87].

Отже, виходячи з вищенаведених даних робимо висновок, що в якості екстрагенту використовуємо метилізобутилкетон.

Екстракція буває одно- та багатоступенева. Багатоступенева екстракція проводиться з метою кращого відділення цільового продукту з розчину до розчинника. Одноступенева (одноразова) екстракція проводиться з використанням ефективних розчинників, які б дозволили за один раз виділити максимально велику кількість цільового продукту з водного розчину. Враховуючи, те що в екстракторі можна встановити перемішуючий пристрій, що робить ефективнішим використання одноразової екстракції, а також одноразова екстракція є менш енергоємною та більш дешевою порівняно з багатоступеневою, оскільки йде велика кількість екстрагенту. Доцільним буде використання одноступеневої екстракції з перемішуючим пристроєм, що суттєво знизить вартість вихідної продукції, навіть, враховуючи втрати цільового продукту, що залишиться у водній фазі. При цьому, необхідно контролювати вміст у піроцину у водній фазі, значення має наближатися до 0, тоді ми будемо впевнені у ефективності проведення даного процесу [88].

Безперервний спосіб забезпечує більшу швидкість процесу та можливість використання невеликих за розміром апаратів, проте періодичний спосіб є більш простим та ефективним. До того ж, застосувати на практиці безперервного способу екстракції є складним завданням, через неможливість ефективного протікання процесу відстоювання і розшарування систем, тому процес екстракції необхідно проводити одноступеневим періодичним способом.

Для здійснення одноступеневої екстракції можна використовувати один апарат, в якому будуть проходити змішування, а потім розділення. Для проведення екстракції необхідно обрати екстрактор з перемішуючим пристроєм, що характеризує потужність екстрактору, чим краще буде проходити процес змішування фаз тим продуктивніше буде стадія екстрагування. Однак, в даному випадку не потрібні високі швидкості обертів мішалки, цілком достатньою буде швидкість у 150-200 об/хв. Під час процесу відстоювання екстрагент з антибіотиком (метилізобутилкетон та мупіроцин) будуть верхньою фазою (за рахунок меншої густини), а водна фаза буде знаходитись знизу апарата. Після завершення процесу водна фаза зливається першою і слідом за нею через інший трубопровід зливається екстракт до збірника [89].

5.6. Вибір способу концентрування цільового продукту та обладнання

Наступним завданням є концентрація цільового продукту. Існують два основні способи концентрування речовин, а саме, це фільтрація, до якої відносять ультрафільтрацію, зворотній осмос, тощо та упарювання розчинів. Застосування фільтрації в даному випадку не є доцільним, через високу вартість процесу, низьку швидкість протікання процесу та відносно низьку ефективність, що впливатиме на вартість антибіотику [90].

Натомість, процес випарювання є доцільним через свою простоту, швидкість, ефективність та легкість випарювання органічного розчинника. Існує три види випарювання:

- Під надлишковим тиском;
- При атмосферному тиску;
- Під вакуумом.

При використанні вакуумного способу знижується температура кипіння розчину, що дозволяє ефективно проводити видалення вологи з

розчинів термолабільної природи. Також цей спосіб є більш економним та доцільним в даному випадку.

Найбільше поширення в промисловості отримали випарні апарати, які нагріваються водяною парою. Так як, водяна пара володіє високою питомою теплотою конденсації й високим коефіцієнтом тепловіддачі.

Вакуум-випарні установки класифікують за способом дії – установки неперервної і періодичної дії, за кількістю корпусів розрізняють однокорпусні і багатокорпусні, за конструктивним виконанням нагрівальних поверхонь – установки з трубчастими і пластинчастими калоризаторами; в залежності від нагрівального агента – установки з паровим, аміачним і фреоновим обігрівом; від умов кипіння продукту – циркуляційні і плівкові.

Використання багатокорпусних випарних апаратів має деякі переваги над однокорпусними, проте, дана технологія дозволяє використовувати більш прості випарні установки без суттєвих відмінностей результатів. Тому дешевше і доцільніше використовувати однокорпусний випарний апарат [71].

Однокорпусна випарна установка безперервної дії з центральною циркуляційною трубою 3 складається з теплообмінного пристрою – гріючої камери 1 і сепаратора 2. Камера обігрівається водяною насиченою парою, яка поступає в її міжтрубний простір. Конденсат відводиться через патрубков у нижній частині гріючої камери 1.

Вихідний розчин подається всередину випарного апарата і по циркуляційній трубці опускається вниз. Піднімаючись по трубам 3, розчин нагрівається і кипить з утворенням вторинної пари. Парорідинна суміш потрапляє в сепаратор 2, де відбувається відділення крапель рідини від пари. Далі вторинна пара видаляється з верхньої частини сепаратора. Частина рідини опускається циркуляційною трубою 2 під нижню трубну решітку гріючої камери. Через різницю густин розчину в трубці 4 і парорідинної суміші в трубах 3 рідина циркулює замкнутим контуром, згущений розчин видаляється через штуцер в днищі апарата.

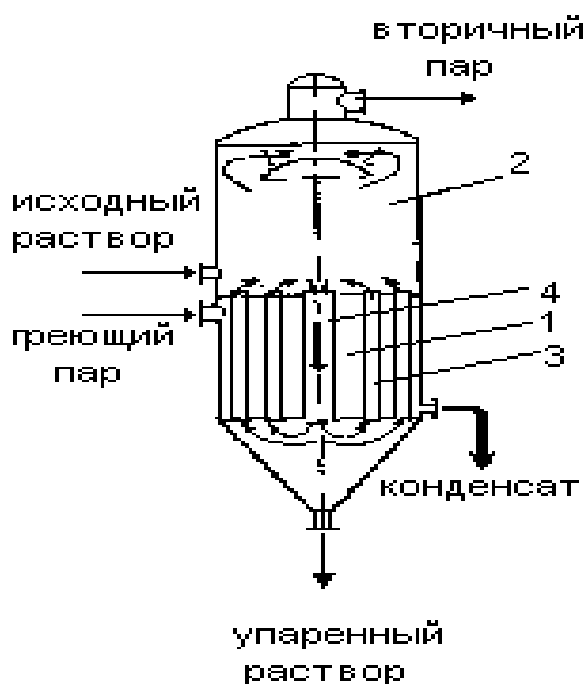


Рис. 5.3 Схема однокорпусного випарного апарату

Основним фактором, який визначає інтенсивність випарювання і продуктивність випарного апарату є температурний напір – різниця між температурою гріючої пари і киплячої рідини [93].

Спираючись на вище наведені дані робимо висновок, що випарювання краще проводити в однокорпусному випарному апараті, він є вигідний з економічного боку за рахунок невеликих витрат, що є важливим для виробництва антибіотику. Випарювання здійснюється за температури 40 °С.

Одразу після процесу випарювання додається розчин гептану для осадження антибіотику з метилізобутилкетону за температури 20°С, при перемішуванні впродовж 2 годин.

Потім проводять кристалізацію мупіроцину, так як мупіроцину властивий поліморфізм. Кристалізація впливає на очистку цільового продукту як відомо, шляхом кристалізації отримують продукти високої якості та чистоти.

Кристалізація мупіроцину відбувається при температурі 20°С, впродовж 22 годин з перемішуванням, відділяється його кристалічна форма.

Кристалізація починається з виникнення зародків, або центрів кристалізації, навколо яких відбувається зростання кристалів. Полегшують освіту зародків чужорідні поверхні (стінки апарату, труб, зважені порошинки, включення газу і ін.). Більші зародки дають початок кристалів.

Для полегшення утворення центрів кристалізації в апарат вводять «затравки» - дрібно подрібнений порошок кристалічної речовини, що є зародками кристалів. Кристалізація при цьому відбувається в основному за рахунок зростання внесених в розчин затравочних кристалів. Для отримання великих кристалів число затравочних кристалів має бути невелика. Кристали відфільтровують промиваючи метилізобутилкетано та гептаном (50/50).

Фільтрпрес – фільтрувальне устаткування для фільтрації під надмірним тиском, є універсальним устаткуванням. Фільтрпресове устаткування може бути використане у багатьох галузях промисловості, де потрібно розділення твердої і рідкої фаз. Застосування фільтрпреса дозволяє не лише відфільтрувати суспензію, але і віджати, промити і просушити осад, не прибігаючи до використання додаткового устаткування. Це істотно скорочує капітальні вкладення і площі для розміщення устаткування. Фільтрпреси знайшли широке застосування в хімічній, металургійній, гірській, харчовій і інших галузях промисловості [94].

Фільтрпреси, у порівнянні з вакуум-фільтрами, та центрифугами мають меншу продуктивність, однак забезпечують отримання продукту з найнижчою вологістю і тому застосовуються, коли умови утилізації потребують максимального зневоднення осадів, а також для зневоднення важкофільтрованих осадів з питомим опором фільтрації до $(60-130) \cdot 10^{10}$ см/г. Фільтрпреси мають меншу енергоємність у порівнянні з вакуум-фільтрами і центрифугами, а сучасні їх конструкції забезпечують роботу в автоматичному режимі.

За конструктивним оформленням фільтр-преси поділяють на два класи:

- горизонтальні;

- вертикальні.

У залежності від конструкції фільтрувальних камер розрізняють фільтрпреси:

- горизонтальні;
- рамні;
- камерні;
- діафрагмові.

Рамний фільтр-прес складається з пакета прямокутних пластин і рам, розташованих по черзі в один ряд і підвішених до опори. Пластини мають рифлену поверхню і обтягнуті фільтрувальною тканиною. Кристали під тиском проходить по каналах в порожнину рами і розділяється фільтрувальною перегородкою. Фільтрування проводять паралельно з промиванням кристалів антибіотику розчином гептану та метилізобутилкетону. На поверхні тканини залишаються тверді частинки, а рідина проходить через перегородку і відводиться по жолобах плити в ємність для збору рідини. Після завершення процесу фільтрування кристали переносять на деках до сушильної камери, а рідину направляють на знешкодження відходів.

5.7 Вибір способу сушіння та сушарки

Наступною метою є одержання сухого мупіроцину з дуже низьким вмістом вологи (до 2%). Основним раціональним способом досягнення даної мети є використання методу сушіння.

Так як антибіотик є термостабільним сушіння відбувається в сушильній шафі при температурі 40 °С за допомогою гарячого повітря протягом 30 хв [95].

РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання

Відомості та специфікація обладнання, що зображене на апаратурній схемі, наведені в *табл. 6.1.*

Специфікація обладнання

Таблиця 6.1.

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
ЗБ-1 ЗБ-2 ЗБ-3	Збірники	3	Збірник для приготування миючих та дезінфікуючих розчинів. Закриті циліндричні ємності, оснащені перемішуючим пристроєм. Робочий об'єм - 15, 15 та 500 літрів. Швидкість обертів – 40 об/хв Матеріал – сталь.
Н-4 Н-27 Н-29 Н-43 Н-50	Відцентровий насос	5	Продуктивність 30 м ³ /год, потужність двигуна 2,5 кВт. Тип - тип KRSN 32/160.
ПЗ-5	Повітрязабірник.	1	Обладнаний металевою сіткою для видалення механічних забруднень. Н=2м, D=150мм

НУХТ БТЕК 02.02.13 КР ПЗ					
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	
Розроб.		Стариченко К.М.			
Перевір.		Пенчук Ю.М.			
Реценз.					
Н. Контр.					
Затверд.		Стабніков В.П.			
СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ			Літ.	Арк.	Акрушів
				73	5
			78 <i>Кафедра БТМ</i>		

Продовження табл.7.1.

Ф-6	Фільтр грубої очистки повітря	1	Фільтр комірковий (ФЯП) фірми Airrol, серія DF (Україна). Продуктивність – 1540 м ³ /год. Фільтруючий матеріал – поліуретан. Е=80%. Маса 6,5 кг, розміри 190x871мм.
К-7	Компресор	1	Максимальний тиск 7,5 бар. Продуктивність = 650 л/хв. Гвинтові компресори «Shama» модель GHIBLI TA 710[10]
Т-8	Теплообмінник-охолоджувач	1	Продуктивність 66 м ³ /год. Робочий тиск 10 бар. Виробник - TRANTER (Швеція).
РС-9	Вертикальний ресивер	1	Об'єм 200 л. Матеріал корпусу – вуглецева та нержавіюча сталь. Робочий тиск до 10 Атм. Виробник - BARRENS (Росія).
Т-10 Т-30 Т-32 Т-33	Теплообмінник-нагрівач	4	Робочий тиск 10 бар. Виготовлений з сталі. Виробник - TRANTER (Швеція).

Продовження табл.6.1.

Ф-11	Фільтр тонкої очистки.	1	Продуктивність 2040 м ³ /год. Е=99%.Марка – FMW.
3- 12, 3-19, 3 – 13, 3-20, 3– 14, 3-21, 3-15, 3-22, 3-16,3-23, 3-17, 3-24, 3-18, 3-25, 3-25	Збірники для приготування та стерилізації композиції А,Б,В,Г,Д, а також розчину глюкози для підживлення	15	Закритий циліндричний збірник оснащений паровою сорочкою та перемішуючим пристроєм, швидкість обертів мішалки 50 об/хв.
Зм-28	Реактор-змішувач	1	Реактор-змішувач з нержавіючої сталі.
Ф-34, Ф-36, Ф-38 Ф-40 Ф-56	Фільтр для індивідуальної очистки. Повітряний сепараторний типу «Лаік»	5	Продуктивність – 250 м ³ /год. Е=99,999 %. Фільтрувальний матеріал - ультратонке волокно з перхлоровінілової смоли.
Фр-35 Фр-37 Фр-39	Інокулятори	3	Посівний апарат оснащений паровою сорочкою та перемішуючим пристроєм. Загальний об'ємом 20, 160, 1250 літрів, швидкість обертів мішалки 580 об/хв. Виробник - BioRus (Росія).
Фр-41	Ферментер з механічним перемішуванням та барботером.	1	Ферментер оснащений паровою сорочкою, перемішуючим пристроєм та барботером. Матеріал – нержавіюча сталь. Об'єм 10000 л. Виробник BioRus (Росія).

Продовження табл 6.1

З-42	Проміжний збірник для культуральної рідини	1	Закрита прямокутна ємкість, оснащена паровою сорочкою та перемішуючим пристроєм. Швидкість обертів мішалки 50 об/хв.
БВФ-44	Барабанний вакуум-фільтр	1	фільтри з поверхнею фільтрування від 1 до 40 м ² мають барабан діаметром 1 – 3 м, довжиною 0,35 – 4,0 м. Барабан здійснює від 0,1 до 3 оборотів в хвилину. Необхідна потужність двигунів фільтра 0,1 – 4,5 кВт. Виробник - ООО "УКР-КОНТАКТ"
З-45 З-49 З-52	Збірники	3	Закриті циліндричні ємності, оснащені перемішуючим пристроєм. Швидкість обертів – 40 об/хв Матеріал – сталь.
Ц-46	Осаджувальна центрифуга безперервної дії з шнековим вивантаженням осаду	1	Потужність 6 м ³ /год. Виробник ЦЕНТР(Білорусія) .
КЛ-55	Калорифер	1	Складається з трубних решіток, кришечок з патрубками для підведення теплоносія, тепловіддаючим елементів, що складаються зі сталевий трубки 16x1,6 мм. і алюмінієвого накатного ребра діаметром 39 мм., а також знімних бічних щитків.
ПМ-62	Пакувальна машина	1	Пакувальна машина сипких матеріалів. Виробник ПакоПак (Україна).

Е-47	Екстрактор	1	Циліндричні ємності з преремішуючим пристроєм. Швидкість обертів мішалки 150-200 об/хв . Виробник BioRus
ВВУ-48	Вакуум випарна установка	1	Установки вакуум-випарні для концентрування випаровуванням харчових і нехарчових (в т. Ч. Хімічно агресивних) продуктів. Установка продуктивністю 500 літрів за годину
КР-51	Кристалізатор	1	Виробник Вента(Росія)
ФП-53	Фільтр прес	1	Виробник Resio(Росія)
СШ-54	Сушильна шафа	1	Сушильна шафа для сушіння кристалів. Виробник Хімтест (Україна)
ПЗ-57	Повітрозабірник	1	Повітрозбірник А1И по серіям 5.903-20 та 5.903-2. Фірма: ООО «НПЦ Вектор-Кондвент». Пристрій забірний, обладнаний металевою сіткою для видалення механічних забруднень. Вироблено:Україна
В-59	Вентилятор	1	Вентилятор ВЦ 9-57 №5 (7,5 / 1500) середнього тиску одностороннього всмоктування. Корпус спіральний, поворотний. Вперед загнуті лопатки. Кількість лопаток – 32 шт. Напрямок обертання – праве і ліве Виробник: Україна

РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

ДР-1.1. Підготовка миючих та дезінфікуючих розчинів.

ДР 1.1.1. Підготовка дезінфікуючих розчинів для обладнання та поверхонь

ДР 1.1.1.1. Приготування миючого засобу «Біомой»

Миючий засіб «Біомой» надходить на підприємство у вигляді порошку. Для щоденного оброблення обладнання об'ємом 35 м^3 , необхідно приготувати 200 л миючого розчину, з розрахунком 100 мл на 1 м^2 . Оскільки миючий засіб «Біомой» використовується як 0,5% розчин, то для його приготування необхідно на технічних вагах зважити 100 г порошку. Наважку поміщаємо у збірник, об'ємом 500 л і через вентилі подаємо 200л питної води [2].

ДР1.1.1.2. Приготування дезінфікуючого розчину «Хлорантаїн»

Хлорантаїн надходить на виробництво у вигляді сипучого порошку у формі дозованих таблеток. Для ефективного знезараження поверхні застосовують 2% розчин хлорантаїну. Для щоденного прибирання виробничого приміщення площею 570 м^2 необхідно приготувати 4315 л миючого розчину, з розрахунком 100 мл на 1 м^2 . Необхідно на технічних вагах зважити 8630 г порошку. Наважку хлорантоїну помістити у збірник, об'ємом 500л і через вентилі подаємо 4315 літрів питної води. Розчин готують для разового застосування [3].

ДР1.1.1.3. Приготування розчину каустичної соди

Для миття обладнання використовується 2%-ий розчин каустичної соди. Щоб приготувати ферментаційне обладнання до культивування необхідно 200 л миючого засобу, для миття ферментера, об'ємом 12500 л,

					НУХТ БТЕК 02.02.13 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Стариченко К.М.			ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Пенчук Ю.М.					78	22
Реценз.						Кафедра БТМ ⁸³		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

інокуляторів, об'ємом 1250, 160, 20 л (коефіцієнт заповнення 0,6) та збірників для приготування компонентів поживного середовища. Для чого зважують на технічних вагах 5 кг каустичної соди, завантажують у збірник і доливають через трубопроводи 200 л питної води. Готовий, розчинений миючий розчин через трубопроводи подають до ферментера, посівного апарату та збірників, де безпосередньо відбувається миття. Об'ємна маса контролюватиметься вентилями [1].

ДР1.2. Підготовка виробничих приміщень

ДР1.2.1. Щоденне прибирання

Щоденну санітарну обробку виробничих приміщень виконують 0,5% розчином біомою. Здійснюють застосування миючого розчину з розрахунком 100-150 мл розчину на 1 м². Робочі розчини слід готувати в чистій ємкості шляхом розведення біомоюпитною водою. Для знезараження підлоги, поряд з розчином біомою, як миючого засобу, використовують 2% розчин хлорантоїну.

Щоденна обробка здійснюється один раз на зміну. Стіни, двері та інші поверхні приміщення протирають губкою, змоченою робочим розчином, після цього цим же розчином миють підлогу.

Панелі, стіни, двері виробничих приміщень щодня протирають вологою хлопчасто-паперовою тканиною, змоченою в 0,5% розчином миючого засобу – біомою. Особливо ретельно потрібно протирати ручки і нижні частини дверей. Внутрішню скляну поверхню рам промивають і протирають у міру забруднення .

ДР1.2.2. Генеральне прибирання

Генеральне прибирання виробничих приміщень проводять не рідше 1 разу на тиждень. Прибирають підлоги, стіни, стелі, повітроводи, підвіконня, поверхні всього обладнання, комунікації, всі виробничі меблі. Обробку виробничих приміщень необхідно виконувати 0,5% розчином Біомою чи Хлорантоїну (масова частка 2%). Стіни, двері, стелі, та інші поверхні зрошують робочим розчином з розрахунку 150-200 мл/м². Після закінчення

зрошення приміщення закривають на 30-40 хвилин, після цього вилучають надлишок розчину за допомогою губки. Особливо забруднені місця додатково миють цим же розчином.

Проводять обробку приміщень у гумових рукавичках, окулярах, респіраторі, гумових чоботях і фартуху.

Мікробіологічний контроль проводить мікробіолог за допомогою змивів стерильними тампонами не рідше 1 разу на тиждень під час виробничого процесу і за 1,5 год до початку роботи.

Також необхідно чергувати дезінфікуючі засоби з метою уникнення утворення стійких форм мікроорганізмів .

ДР 1.3. Миття і дезінфікування обладнання

Один раз за цикл проводять обробку ферментеру 2% розчином каустичної соди. Для цього в ферментер по завантажувальній лінії з відділення приготування поживного середовища подають розчин каустичної соди за температури 20 °С, після чого ферментер заповнюють водою до необхідного рівня. Розчин каустичної соди в ферментері перемішують за допомогою мішалки чи подачею повітря через барботер упродовж 15 хв. Після дезінфекції, обладнання ретельно промивають питною водою. В усіх цехах виробництва повинні бути розроблені графіки періодичного очищення та миття всього технологічного обладнання.

Зовнішню частину ферментаційного обладнання обробляють 0,5% розчином Біомою чи 2% розчином хлорантоїном. Залишки миючого засобу забирають вологою губкою.

ДР1.4. Перевірка на герметичність

Перевірку обладнання на герметичність проводять після проведення всіх ремонтних та перевірочних робіт. Ємкісне обладнання на герметичність перевіряють при повітряному тиску 0,07 МПа. Якщо упродовж 30 хв тиск (за манометром) не знижується, обладнання вважають герметичним. Фланцеві з'єднання та зварнішки перевіряють на герметичність за допомогою мильної води при повітряному тиску від 0,07 МПа. Якщо обладнання не герметичне, в

певних місцях будуть спостерігатися бульбашки повітря. Таке обладнання не піддається подальшій експлуатації – його ремонтують.

Герметичність парових вентилів перевіряють на дотик. Обов'язково раз на тиждень на герметичність перевіряють посівну лінію з усуненням усіх можливих пропусків. Під паровим тиском перевіряють всі матеріальні, посівні і конденсатні вентиля та трубопроводи.

ДР1.5.Стерилізація.

Після перевірки обладнання та комунікацій на герметичність, подають гостру пару $T=125-130^{\circ}\text{C}$, $P=0,2$ МПа протягом 40 хвилин.

По закінченні стерилізації зупиняють подачу гострої пари, ставлять всі вузли під паровий захист та знижують тиск. При зниженні тиску проводять охолодження до температури 90°C .

ДР 2. Підготовка аераційного повітря

ДР2.1. Забір атмосферного повітря

Атмосферне повітря забирають через забірну шахтуна висоті 30 м. Повітрязабірник представляє собою металеву трубу діаметром 100-150 мм. При визначенні місця забору зовнішнього повітря необхідно враховувати існуючі та можливі джерела аерозольних і газоподібних забруднень (димарі, автотранспорт, газоподібні промислові викиди, квітучі рослини тощо).

ДР 2.2. Очищення на фільтрі грубої очистки

Попередню очистку повітря здійснюють у фільтрі типу ФЯП (Ф – 6) зі ступенем очистки $E=80\%$. При проходженні повітря через фільтр грубого очищення, пил та механічні частки з повітря осідають, а очищене повітря надходить у компресор.

ДР 2.3. Стиснення повітря

При стисканні повітря у компресорі - його температура підвищується до $200-250^{\circ}\text{C}$.

Після компресора повітря має наступні характеристики: $P = 0,35-0,5$ МПа, $W = 60 \%$. Оборотна вода з цієї стадії направляється в збірник промивних вод.

ДР 2.4. Охолодження повітря у теплообміннику

Перед подачею в головний фільтр повітря охолоджують до температури 15-25°C в теплообміннику, подачею холодної води.

ДР 2.5. Видалення вологи

Охоложене повітря надходить у ресивер, в якому видаляється надмірна волога та стабілізується потік повітря. Вологість на виході з ресивера становить $W=40\%$.

ДР 2.6. Нагрівання повітря

Після ресивера повітря подається на теплообмінник, в якому нагрівається до температури 37°C електрокалорифером для досягнення необхідної температури для культивування. Потім стабілізоване повітря надходить на головний фільтр.

ДР 2.7. Очищення повітря в головному фільтрі

Подальше очищення повітря від механічних забруднень проходить у головному фільтрікарманного типу. Всередині фільтру знаходяться декілька шарів ультратонкого поліпропіленового волокна, що очищають повітря від пилу і мікроорганізмів. Ступінь очищення становить $E = 99\%$, при використанні фільтру марки FMW.

ДР 2.8. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі

Заключна стадія очищення повітря від контамінантів здійснюється в індивідуальному фільтрі, які встановлені над кожним ферментером для подачі стерильного повітря.

Як фільтруючий матеріал використовують ультратонке волокно з перхлоровінілової смоли. Фільтр являє собою металевий циліндр з кришкою та конічним дном. Ступінь очищення становить $E = 99,999\%$.

ДР 4. Приготування розчину глюкози для підживлення

Через об'ємно-ваговий дозатор зважують 222,272 г глюкози наважку поміщають в збірник об'ємом 5000 л, додають 1302,672 л питної води, перемішують.

ДР 4.1. Стерилізація розчину глюкози

Стерилізацію здійснюють гострою парою при температурі 112 °С протягом 30 хв, тиск 0,05 МПа.

ДР 5. Приготування та стерилізація поживних середовищ

ДР 5.1 Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалках.

Для вирощування інокуляту необхідно приготувати 0,55 л поживного середовища (10% від об'єму середовища). Джерелом вуглецю в поживному середовищі виступає глюкоза, джерелом азоту – кукурудзяний екстракт та соєве борошно. Всі компоненти для приготування 0,55 л поживного середовища наведені в таблиці 7.1.

ДР 5.1.1 Приготування та стерилізація композиції А

На технічних вагах зважують 0,0311 г глюкози та 0,0013 г кукурудзяного екстракту, відміряють 0,324 л питної води, поміщають у колбу об'ємом 500 мл. Перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою та стерилізують в автоклаві при температурі 112 °С протягом 30 хв, тиск 0,05 МПа.

ДР 5.1.2 Приготування композиції Б

На технічних вагах зважують 0,01 г соєвого борошна, пересипають його у термостійку колбу, об'ємом 250 мл, і поступово порціями вносять 0,11 л нагрітої до 80 °С водопровідної води. Перемішування здійснюють скляною паличкою для перетворення суспензії на рівномірну структуру. Дану суміш охолоджують до кімнатної температури та передають на стерилізацію (до ДР 5.1.2.1)

ДР 5.1.2.1 Стерилізація композиції Б

Від ДР 5.1.2 охолоджена суміш соєвого борошна направляється на стерилізацію. Стерилізацію здійснюють у автоклаві при температурі 112 °С протягом 30 хв, тиск 0,05 МПа.

Таблиця 7.1

Композиції для стерилізації поживного середовища у колбах на качалці				
Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 0,55 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції V, л
Глюкоза	60,00	0,0311	А	0,3564
Кукурудзяний екстракт	2,50	0,0013		
Вода		0,324		
Соєве борошно	20,00	0,01	Б	0,11
Вода		0,1		
Натрій фосфорнокислий 2-заміщений	2,50	0,0013	В	0,0273
Вода		0,0143		
Сульфат амонію	9,00	0,005	Г	0,0633
Сульфат магнію	0,50	0,0003		
Вода		0,058		
Крейда	2	0,001	Д	0,011
Вода		0,01		
Разом:		0,55		0,55

ДР 5.1.3 Приготування і стерилізація композиції В

На технічних вагах зважують 0,0013 г натрію фосфорнокислого 2-заміщеного, додають питну воду 0,0143 л. Вміщують у колбу об'ємом 100 мл. Колбу закривають ватно-марлевою пробкою та стерилізують в автоклаві при температурі 131 °С упродовж 40 хв, тиск 0,15 МПа.

ДР 5.1.4 Приготування і стерилізація композиції Г

На технологічних вагах зважують 0,005 г сульфату амонію, 0,0003 г сульфату магнію. Наважки переносять у колбу місткістю 100 мл. Додають питну воду 0,058 л. Колбу закривають ватно-марлевою пробкою та

стерилізують в автоклаві при температурі 131 °С упродовж 40 хв, тиск 0,15 МПа.

ДР 5.1.5 Приготування та стерилізація композиції Д

На технічних вагах зважують 0,001 г карбонату кальцію. Наважку поміщають у молоткову дробарку, продуктивністю 10 кг/год, подрібнюють при 1800 об/хв.(подрібнення здійснюють до утворення однорідної маси, розмір частинок після подрібнення 10^{-4}).

Подрібнену суміш поміщають у колбу місткістю 100 мл, додають нагріту до 50 °С питну воду в кількості 0,05 л, перемішують за допомогою скляної палички до утворення однорідної системи. Колбу закривають ватно-марлевою пробкою та стерилізують в автоклаві при температурі 131 °С упродовж 40 хв, тиск 0,15 МПа.

ДР 5.2. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу.

Для культивування необхідно приготувати 5,6 л поживного середовища. Враховуючи, що для засіву інокулятора використовують рідкий посівний матеріал, об'єм якого становить 0,6 л і при стерилізації утворюється конденсат (10%), загальна кількість води, яку потрібно додати для приготування середовища – 4,54 л. Вміст компонентів для приготування 5,6 л середовища наведено в *табл. 7.2*

Таблиця 7.2

Композиції для стерилізації поживного середовища у ферментері 0,02 м³				
Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 5,6л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції V, л
Глюкоза	60,00	0,311	А	3,264
Кукурудзяний екстракт	2,50	0,013		
Вода		2,94		
Соєве борошно	20,00	0,1	Б	1,01
Вода		0,91		

Натрій фосфорнокислий 2-заміщений	2,50	0,013	В	0,133
Вода		0,12		
Сульфат амонію	9,00	0,05	Г	0,533
Сульфат магнію	0,50	0,003		
Вода		0,48		
Крейда	2	0,01	Д	0,1
Вода		0,09		
Конденсат		0,56		0,56
Разом:		5,6		5,6

ДР 5.2.1 Приготування та стерилізація композиції А

На технічних вагах зважують 0,311 г глюкози та 0,013 г кукурудзяного екстракту, відміряють 2,94 л питної води, поміщають у збірник об'ємом 5 л. Перемішують та стерилізують гострою парою при температурі 112 °С протягом 30 хв, тиск 0,05 МПа.

ДР 5.2.2 Приготування композиції Б

На технічних вагах зважують 0,1 г соєвого борошна, пересипають його у колбу, об'ємом 3 л і поступово порціями вносять 0,91 л нагрітої до 80 °С водопровідної води при увімкненій мішалці зі швидкістю перемішування 60 – 80 об/хв. Дану суміш охолоджують до кімнатної температури та передають на стерилізацію (до ДР 5.2.2.1)

ДР 5.2.2.1 Стерилізація композиції Б

Від ДР 5.2.2 охолоджена суміш соєвого борошна направляється на стерилізацію. Стерилізацію здійснюють гострою парою при температурі 112 °С протягом 30 хв, тиск 0,05 МПа.

ДР 5.2.3 Приготування і стерилізація композиції В

На технічних вагах зважують 0,013 г натрію фосфорнокислого 2-заміщеного. Вміщують в колбу об'ємом 250 мл, додають питну воду 0,12 л. Стерилізують гострою парою при температурі 131 °С упродовж 40 хв, тиск 0,15 МПа.

ДР 5.2.4 Приготування і стерилізація композиції Г

На технічних вагах зважують 0,45 г сульфату амонію, 0,003 г сульфату магнію. Наважки переносять в збірник об'ємом 750 мл. Додають питну воду 0,48 л. Стерилізують при температурі 131 °С упродовж 40 хв, тиск 0,15 МПа.

ДР 5.2.5 Приготування та стерилізація композиції Д

На технічних вагах зважують 0,01кг карбонату кальцію. Наважку поміщають у молоткову дробарку, продуктивністю 10 кг/год, подрібнюють при 1800 об/хв.(подрібнення здійснюють до утворення однорідної маси, розмір частинок після подрібнення 10^{-4}).

Подрібнену суміш поміщають у колбу місткістю 2 л, додають нагріту до 50 °С питну воду в кількості 0,09 л, перемішують за допомогою мішалки до утворення однорідної системи. Стерилізують гострою парою при температурі 131 °С упродовж 40 хв, тиск 0,15 МПа.

ДР 5.3. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу.

Для культивування необхідно приготувати 56,7 л поживного середовища. Враховуючи, що для засіву інокулятора використовують рідкий посівний матеріал об'ємом 5,6 л і при стерилізації утворюється конденсат (10%), загальна кількість води, яку потрібно додати для приготування середовища – 45,53 л. Вміст компонентів для приготування 5,6 л поживного середовища наведено у табл. 7.3.

Таблиця 7.3

Композиції для стерилізації поживного середовища у ферментері 0,16 м³				
Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 56,7л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції V, л
Глюкоза	60,00	3,42	A	33,037
Кукурудзяний екстракт	2,50	0,142		
Вода		29,472		
Соеве борошно	20,00	1,14	B	10,58
Вода		9,44		
Натрій фосфорнокислий 2-заміщений	2,50	0,142	B	1,317
Вода		1,175		
Сульфат амонію	9,00	0,512		5,042
Сульфат магнію	0,50	0,03		
Вода		4,5		
Крейда	2	0,114	D	1,054
Вода		0,94		
Конденсат		5,67		5,67
Разом:		561,3		561,3

ДР 5.3.1 Приготування та стерилізація композиції А

Через об'ємно-ваговий дозатор зважують 3,42кг глюкози та 0,142кг кукурудзяного екстракту, наважку поміщають в збірник об'ємом 50 л, додають 29,472 л питної води, перемішують, стерилізують гострою парою при температурі 112 °С протягом 30 хв, тиск 0,05 МПа.

ДР 5.3.2 Приготування композиції Б

Через об'ємно-ваговий дозатор зважують 1,14кг соєвого борошна, пересипають його у збірник, об'ємом 20 л і поступово порціями вносять 9,44

л нагрітої до 80 °С водопровідної води при увімкненій мішалці зі швидкістю перемішування 60 – 80 об/хв. Дану суміш охолоджують до кімнатної температури та передають на стерилізацію (до ДР 5.3.2.1)

ДР 5.3.2.1 Стерилізація композиції Б

Від ДР 5.3.2 охолоджена суміш соєвого борошна направляється на стерилізацію. Стерилізацію здійснюють гострою парою при температурі 112 °С протягом 30 хв, тиск 0,05 МПа.

ДР 5.3.3 Приготування і стерилізація композиції В

На технічних вагах зважують 0,142кг натрію фосфорнокислого 2-заміщеного, додають питну воду 1,175 л. Вміщують в колбу об'ємом 3 л. Стерилізують гострою парою при температурі 131 °С упродовж 40 хв, тиск 0,15 МПа.

ДР 5.3.4 Приготування і стерилізація композиції Г

Через об'ємно-ваговий дозатор зважують 0,5кг сульфату амонію та 0,03кг сульфату магнію. Наважки переносять в збірник ємністю 5 л. Додають питну воду в кількості 4,5 л. Стерилізують гострою парою при температурі 131 °С упродовж 40 хв, тиск 0,15 МПа.

ДР 5.3.5 Приготування і стерилізація композиції Д

На технічних вагах зважують 0,114кг карбонату кальцію. Наважку поміщають у молоткову дробарку, продуктивністю 10 кг/год, подрібнюють при 1800 об/хв.(подрібнення здійснюють до утворення однорідної маси, розмір частинок після подрібнення 10^{-4}).

Подрібнену суміш поміщають у колбу місткістю 3 л, додають нагріту до 50 °С питну воду в кількості 0,94 л, перемішують за допомогою мішалки до утворення однорідної системи. Стерилізують гострою парою при температурі 131 °С упродовж 40 хв, тиск 0,15 МПа.

ДР 5.4. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу.

Для культивування необхідно приготувати 1250 л поживного середовища. Враховуючи, що для засіву інокулятора використовують рідкий

посівний матеріал об'ємом 56,1 л і при стерилізації утворюється конденсат (10%), загальна кількість води, яку потрібно додати для приготування середовища – 451,17 л. Вміст компонентів для приготування 1250л середовища наведено в табл. 7.4.

ДР 5.4.1 Приготування та стерилізація композиції А

Через об'ємно-ваговий дозатор зважують 33,6кг глюкози та 1,4 кг кукурудзяного екстракту, наважку поміщають в збірник об'ємом 500 л, додають 292,4 л питної води, перемішують, стерилізують гострою парою при температурі 112 °С протягом 30 хв, тиск 0,05 МПа.

ДР 5.4.2 Приготування композиції Б

Через об'ємно-ваговий дозатор зважують 11,2 кг соєвого борошна, пересипають його у збірник, об'ємом 200 л і поступово порціями вносять 93,6 л нагрітої до 80 °С водопровідної води при увімкненій мішалці зі швидкістю перемішування 60 – 80 об/хв. Дану суміш охолоджують до кімнатної температури та передають на стерилізацію (до ДР 5.4.2.1)

ДР 5.4.2.1 Стерилізація композиції Б

Від ДР 5.4.2 охолоджена суміш соєвого борошна направляється на стерилізацію. Стерилізацію здійснюють гострою парою при температурі 150 °С протягом 30 хв, тиск 0,05 МПа.

ДР 5.4.3 Приготування і стерилізація композиції В

Через об'ємно-ваговий дозатор зважують 1,4кг натрію фосфорнокислого 2-заміщеного, додають питну воду 11,7 л. Вміщують в збірник об'ємом 20 л. Стерилізують гострою парою при температурі 131 °С упродовж 40 хв, тиск 0,15 МПа.

Таблиця 7.4

Композиції для стерилізації поживного середовища у ферментері 1,25 м³				
Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 561,3л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції V, л
Глюкоза	60,00	33,6	А	327,4
Кукурудзяний екстракт	2,50	1,4		
Вода		292,4		
Соєве борошно	20,00	11,2	Б	104,8
Вода		93,6		
Натрій фосфорнокислий 2-заміщений	2,50	1,4	В	13,1
Вода		11,7		
Сульфат амонію	9,00	5	Г	49,57
Сульфат магнію	0,50	0,3		
Вода		44,27		
Крейда	2	1,1	Д	10,3
Вода		9,2		
Конденсат		56,13		56,13
Разом:		561,3		561,3

ДР 5.4.4 Приготування і стерилізація композиції Г

Через об'ємно-ваговий дозатор зважують 5кг сульфату амонію, 0,3кг сульфату магнію. Додають питну воду 47,27 л. Наважки переносять в збірник ємністю 60 л. та стерилізують гострою парою при температурі 131 °С упродовж 40 хв, тиск 0,15МПа .

ДР 5.4.5 Приготування і стерилізація композиції Д

Через об'ємно-ваговий зважують 1,1кг карбонату кальцію. Наважку поміщають у молоткову дробарку, продуктивністю 10 кг/год, подрібнюють

при 1800 об/хв.(подрібнення здійснюють до утворення однорідної маси, розмір частинок після подрібнення 10^{-4}).

Подрібнену суміш поміщають у збірник місткістю 20 л, додають нагріту до 50 °С питну воду в кількості 9,2 л, перемішують за допомогою мішалки до утворення однорідної системи. Стерилізують гострою парою при температурі 131 °С упродовж 40 хв, тиск 0,15 МПа.

ДР 5.5. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу.

Для культивування необхідно приготувати 5556,8 л поживного середовища. При стерилізації утворюється конденсат (10%) та вноситься 10% рідкого посівного матеріалу, загальна кількість води, яку потрібно додати для приготування середовища – 3687 л. Вміст компонентів для приготування 12000 л середовища наведено в табл. 7.5.

ДР 5.5.1 Приготування та стерилізація композиції А

Через об'ємно-ваговий дозатор зважують 333,408кг глюкози та 13,89 кг кукурудзяного екстракту, додають 2035,798л питної води, наважку поміщають в збірник об'ємом 5000 л, стерилізують гострою парою при температурі 112 °С протягом 30 хв, тиск 0,05 МПа.

ДР 5.5.2 Приготування композиції Б

Через об'ємно-ваговий дозатор зважують 111,14кг соєвого борошна, пересипають його у збірник, об'ємом 1000 л і поступово порціями вносять 540 л нагрітої до 80 °С водопровідної води при увімкненій мішалці зі швидкістю перемішування 60 – 80 об/хв. Дану суміш охолоджують до кімнатної температури та передають на стерилізацію (до ДР 5.5.2.1)

ДР 5.4.2.1 Стерилізація композиції Б

Від ДР 5.5.2 охолоджена суміш соєвого борошна направляється на стерилізацію. Стерилізацію здійснюють гострою парою при температурі 150 °С протягом 30 хв, тиск 0,05 МПа.

Таблиця 7.5

Композиції для стерилізації поживного середовища у ферментері 12,5 м³				
Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 5556,8 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції V, л
Глюкоза	60,00	333,408	А	2035,798
Кукурудзяний екстракт	2,50	13,89		
Вода		1688,5		
Соєве борошно	20,00	111,14	Б	651,14
Вода		540		
Натрій фосфорнокислий 2-заміщений	2,50	13,89	В	81,39
Вода		67,5		
Сульфат амонію	9,00	50	Г	309,4
Сульфат магнію	0,50	2,8		
Вода		256,6		
Крейда	2	11,1	Д	65,1
Вода		54		
Конденсат		1111,3		1111,3
Глюкоза підж.	40,00	222,272	підживлення	1302,672
Вода		1080,4		
Разом:		5556,8		5556,8

ДР 5.5.3 Приготування і стерилізація композиції В

Через об'ємно-ваговий дозатор зважують 13,89 кг натрію фосфорнокислого 2-заміщеного, додають питну воду 67,5 л. Вміщують в збірник об'ємом 160 л. Стерилізують гострою парою при температурі 131 °С упродовж 40 хв, тиск 0,15 МПа.

ДР 5.5.4 Приготування і стерилізація композиції Г

Через об'ємно-ваговий дозатор зважують 50 кг сульфату амонію та 2,8кг сульфату магнію. Додають питну воду 256,6 л. Наважки переносять в збірних ємкістю 500 л. Стерилізують гострою парою при температурі 131 °С упродовж 40 хв, тиск 0,15 МПа.

ДР 5.5.5 Приготування та стерилізація композиції Д

Через об'ємно-ваговий дозатор зважують 11,1 кг карбонату кальцію. Наважку поміщають у молоткову дробарку, продуктивністю 10 кг/год, подрібнюють при 1800 об/хв.(подрібнення здійснюють до утворення однорідної маси, розмір частинок після подрібнення 10^{-4}).

Подрібнену суміш поміщають у збірник місткістю 100 л, додають нагріту до 50 °С питну воду в кількості 54 л, перемішують за допомогою мішалки до утворення однорідної системи. Стерилізують гострою парою при температурі 131 °С упродовж 40 хв, тиск 0,15 МПа.

ТП 6. Підготовка посівного матеріалу

ТП 6.1. Підтримання колекційної культури

Колекційну культуру *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586 зберігають у пробірках скошеним сусло-агаром. Пересіви здійснюють кожні 3 – 4 місяці. Всі роботи з колекційною культурою проводяться строго в асептичних умовах.

ТП 6.2. Одержання робочої культури на агаризованих середовищах

Колекційну культуру, що зберігається в пробірках з сусло-агаром, розсівають петлею до ізольованих колоній на чашки Петрі із сусло-агаром і вирощують при температурі 25 – 30 °С упродовж 25 год.

ТП 6.3. Вирощування культури на агаризованих середовищах

Отримані ізольовані колонії (від ТП 6.2) пересівають петлею в пробірки зі скошеним сусло-агаром (одна ізольована колонія використовується для засіву однієї пробірки). В пробірки пересівають

ізолювані колонії, що знаходяться на відстані не менше 1 см. Тривалість вирощування – 25 год.

ТП 6.4. Вирощування культури в колбах на качалках

Для вирощування рідкого посівного матеріалу у 6 колб по 500 мл додають 387 мл розчину композиції А (від ДР 5.1.1), 122 мл розчину композиції Б (від ДР 5.1.2.1), 15,6 мл розчину композиції В (від ДР 5.1.3), 12,2 мл розчину композиції Д (від ДР 5.1.4) та 0,0633 л розчину композиції Г (від ДР 2.1.5). У пробірку з робочою культурою *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586, вирощену на сусло-агарі, вносять 5 мл фізіологічного розчину, суспендують клітини (змивають культуру), піпеткою відбирають одержану бактеріальну суспензію і вносять у колби з розлитим поживним середовищем. Для засіву однієї колби використовують бактеріальну суспензію, одержану з однієї пробірки. Після вирощування бактерій у колбах на качалці (220 об/хв) упродовж 25 год культуральну рідину з колб переносять у стерильну засівну колбу об'ємом 2 л.

ТП 6.5. Вирощування інокуляту в інокуляторі 20 л

Для вирощування посівного матеріалу у попередньо простерилізований апарат об'ємом 20 л вносять 3,264 л розчину композиції А (від ДР 5.2.1), 1,01 л розчину композиції Б (від ДР 5.2.2.1), 0,133 л розчину композиції В (від ДР 5.2.3), 0,533 л розчину композиції Г (від ДР 5.2.4) та 0,19 л розчину композиції Д (від ДР 5.2.5). Перемішують. У стерильних умовах (за допомогою засівної колби) в інокулятор вноситься рідкий посівний матеріал (від ТП 6.4)

ТП 6.6. Вирощування інокуляту в інокуляторі 160 л

Для вирощування посівного матеріалу у попередньо простерилізований апарат об'ємом 160 л вносять 33,037 л розчину композиції А (від ДР 5.3.1), 10,58 л розчину композиції Б (від ДР 5.3.2.1), 1,317 л розчину композиції В (від ДР 5.3.3), 5,042 л розчину композиції Г (від ДР 5.3.4) та 1,054 л розчину композиції Д (від ДР 5.3.5). Перемішують. У стерильних умовах в інокулятор вноситься рідкий посівний матеріал (від ТП 6.5).

ТП 6.7. Вирощування інокуляту в інокуляторі 1250 л

Для вирощування посівного матеріалу в попередньо простерилізований апарат об'ємом 1,25 м³ вносять 327,4 л розчину композиції А (від ДР 5.4.1), 104,8л розчину композиції Б (від ДР 5.4.2.1), 13,1л розчину композиції В (від ДР 5.4.3), 49,57 л розчину композиції Г (від ДР 5.4.4) та 10,3 л розчину композиції Д (від ДР 5.4.5). Перемішують. У стерильних умовах в інокулятор вноситься рідкий посівний матеріал (від ТП 6.6).

ТП 7. Біосинтез

ТП 7.1. Виробниче культивування

Виробниче культивування здійснюють у ферментері об'ємом 12,5 м³. У попередньо простерилізований ферментер зі збірника подається 2035,798 л розчину композиції А (від ДР 5.5.1), після чого, зі збірника подається 803,14 л композиція Б (від ДР 5.5.2.1), 81,39л розчину композиції В (від ДР 5.5.3), 309,4 л розчину композиції Г (від ДР 5.5.4), 65,4 л розчину композиції Д (від ДР 5.5.5) та посівний матеріал з ферментера (від ТП 6.7). У процесі культивування проводиться відбирання проби для мікробіологічного контролю з періодичністю в 8 години.

Тривалість культивування становить 50 год. Основними показниками, що свідчать про закінчення ферментації, є відсутність вуглеводневого компонента в культуральній рідині та припинення біосинтезу антибіотика.

ТП 8. Відділення біомаси

ТП 8.1. Фільтрування культуральної рідини.

Культуральна рілина із збірника відцентровим насосом направляється на барабанний вакуум-фільтр. В ході фільтрації утворюється осад біомаси, який подається на знешкодження, та фільтрат які піддаються центрифугуванню.

ТП 9. Центрифугування

Фільтрат відцентровим насосом перекачується в центрифугу. Додаємо 10 % соляну кислоту з метою осадження розчину, рН=4,5.

З осадженого розчину виділяємо антибіотик. Центрифугування проводять впродовж 30 хв при 3000-5000 об/хв. У результаті центрифугування утворюється гелеподібна маса, яка містить антибіотик, та надосадова рідина, яка зливається. Далі продукт передається на екстрагування до ТП 10.

ТП 10. Екстрагування

Екстрагування антибіотику відбувається однокорпусному екстракторі (Е-15). Утворена гелеподібна маса від ТП 9 подається в апарат. Тривалість екстрагування 4 год. Швидкість обертів мішалки - 150-200 об/хв. Екстрагент – метилізобулкедон. Водна фаза при розшаруванні розчину відправляється на знезараження рідких відходів до ЗВ 14. Антибіотик з екстрактом направляються до ТП 11 .

ТП 11. Концентрування антибіотику

ТП 11.1 Концентрування мупіроцину в вакуум випарній установці.

Вихідний розчин від ТП 10, переважно підігрітий до температури кипіння подається у вакуум випарну установку. Екстракт мупіроцину випарюють протягом години при температурі 70 °С, випарювання проводять до 80%-го вмісту сухих речовин, який обігрівається первинною парою. Чистота отриманого препарату 90-96%. Вологий продукт направляється до іншої стадії ТП 11.2.

ТП 11.2. Додавання гептану.

Після випарювання, випарений концентрат з вакуум випарної установки подається до збірника. Також до збірника через патрубки подається розчин гептану з метою осадження антибіотика з метилізобутилкетону. Перемішування відбувається протягом 2 год, швидкість обертів мішалки 50 об/хв. Потім розчин подається на кристалізацію до ТП 11.3.

ТП 11.3 Кристалізація та фільтрування антибіотику.

Розчин антибіотику від ТП 11.3 подається до кристалізатора за допомогою відцентрового насоса. До кристалізатора попередньо вноситься затравка із кристалів хімічно чистого антибіотику з лабораторії. вхідного розчину – 50-60° С; температура вихідного - 20-30° С (при занесені розчину до апарату розчин підігрівається, а при виході і самій кристалізації понижуюється). Кристали вручну на деках передаються рамний фільтрпрес. При фільтруванні кристалів вони додатково промиваються розчином метилізобутилкетону. Після фільтрування кристали вручну подаються до сушильної шафи.

ТП 12 Сушіння

Кристали вручну на деках подаються до сушильної шафи. Також до апарату подається нагріте повітря від теплообмінника. Час 30 хв , температура 40 °С. Сухі кристали подаються до ПМФ 13.

ПМВ 13 Фасування, маркування, пакування

Мупіроцин фасують по 1 кг у пакети із поліетиленової плівки. Поліетиленові пакети термоспаюють та упаковують в крафт-мішки. Паперові мішки склеюють.

На кожен мішок наноситься назва та марка препарату, підприємства-виробника, маса нето, номер партії, термін та умови зберігання, попереджувальні написи: «Зберігати із обережністю, у сухих місцях без прямого сонячного світла» [70].

ЗВ 14. Знешкодження відходів

Для знешкодження газоподібних відходів використовують осаджувальні циклони. В наслідок очищення відбувається осадження пилу, а очищене повітря виходить в атмосферу.

Найбільше застосування для знешкодження та утилізації твердих промислових відходів знаходять термічні методи їх обробки під впливом високих температур. Спалювання помірно та мало небезпечних твердих

промислових відходів можна здійснювати в печах різної конструкції (камерні, барабанні тощо).

Для знешкодження рідких відходів можна використовувати метод активного мулу. Для його реалізації створюється система неглибоких біологічних ставків, в котрих іде змішування стічних вод з мулом, що утворився при попередньому окисленні стічних вод. В активному мулі багато мікроорганізмів, які завершують знешкодження стоку [71].

РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СИНТЕЗУ АНТИБІОТИКА МУПРОЦИНУ

Таблиця 8.1.

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
Кх 1.1.1.1. Приготування миючого засобу Біумой	Концентрація розчину	Хімічні методи визначення концентрації	Після приготування розчину.	C=0,5%,
Кх 1.1.1.2 Приготування хлорантоїну	Концентрація розчину хлорантоїну	Хімічні методи визначення концентрації	Після приготування розчинів	C=2%
Кх 1.1.1.3 Приготування розчину Каустичної соди	Концентрація розчину	Хімічні методи визначення концентрації	Після приготування розчину.	C=2%,
Км 1.2. Підготовка виробничих приміщень	Мікробіологічна чистота поверхонь виробничих приміщень (стіни, підлога, двері). Відсутність бруду та пилу.	Змиви тампонами або метод відбитків. Мікробіологічний метод, розведення та висів на чашки Петрі. Візуальний огляд.	Щоденне прибирання. Генеральне – 1 раз на тиждень	КУО<200/100см ² КУО<400/100см ²

					НУХТ БТЕК 02.02.13 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Стариченко К.М.				КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	Лім.	Арк.	Акрушів
Перевір.	Пенчук Ю.М.						100	105
Реценз.						<i>Кафедра БТМ</i>		
Н. Контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.							

Продовження таблиці 8.1.

Кт 1.3. Миття і дезінфікування обладнання	Чистота обладнання, температура мийного розчину.	Термометр технічний, годинник	Під час проведення обробки	$t = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ $\tau = 30\text{-}60\text{ хв}$
Кт 1.4. Перевірка на герметичність	Герметичність роботи обладнання, час роботи, тиск.	Манометр технічний, Годинник	Тиск визначаються безперервно під час перевірки на герметичність	$P=0,07\text{ МПа}$, $\tau=30\text{хв}$.
Кт, Км 1.5. Стерилізація	Режим стерилізації вузлів обладнання. Тиск. Час. Температура. Мікробна чистота.	Технічний термометр, годинник, манометр. Мікробіологічний метод, розведення та висів на чашки Петрі.	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації. МБ аналіз після процесу.	$T=130\text{ }^{\circ}\text{C}$, $P=0,2\text{ МПа}$. $\tau=40\text{хв}$. Відсутність мікробіоти
Кт 2.2. Очищення на фільтрі грубої очистки	Ступінь чистоти повітря на виході з фільтра, перепад тисків	Манометр. Перевірка ступеня очистки	Безперервно під час очистки повітря в фільтрі грубого очищення	$E = 80\text{ } \%$.
Кт 2.3. Стиснення повітря	Стиснення повітря, температура, тиск.	Технічний Термометр, манометр	Безпосередньо під час компресування повітря	$P = 0,35\text{-}0,5$ МПа , $t =$ $200\text{ -}250\text{ }^{\circ}\text{C}$,
Кт 2.4. Охолодження повітря у теплообміннику	Температура	Технічний термометр	Безпосередньо під час проведення процесу	$t=15\text{-}25\text{ }^{\circ}\text{C}$
Кт 2.5. Видалення вологи	Волога	Вологомір	Безпосередньо під час проведення процесу	$W=40\text{ } \%$.

Кт 2.6. Нагрівання повітря	Температура	Технічний термометр	Безпосередньо під час проведення процесу	$t=37^{\circ}\text{C}$
Кт 2.7. Очищення повітря в головному фільтрі	Ступінь очищення, перепад тисків.	Перевірка ступеню очищення, манометр.	Після очистки повітря в фільтрі тоного очищення	$E = 99\%$
Кт 2.8. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі	Ступінь очищення	Перевірка ступеню очищення.	Під час очистки повітря на індивідуальному фільтрі	$E = 99,999\%$, .
Кт, Км 3.1. Приготування стерилізація поживного середовища в колбах	Концентрація розчину фруктози, кальцію карбонату, температура, час, мікробна контамінація	Технічний термометр, годинник, технічні ваги, мірний циліндр, мікробіологічний контроль.	Температура визначається безперервно під час стерилізації. Мікробіологічний контроль після стерилізації.	$C_1=30$ г/л. $C_2=30$ г/л $t=112^{\circ}\text{C}$, $\tau=40$ хв, $p=0,05$ МПа. Відсутність мікробіоти.
Кт,Км.4 Приготування та стерилізація глюкози для підживлення	Масова частка компонентів, температура час, мікробна контамінація.	Технічний термометр, годинник, манометр, технічні ваги, мірний циліндр, Мікробіологічний метод, розведення та висів на чашки Петрі.	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації.	$t=112^{\circ}\text{C}$, $\tau=40$ хв, $p=0,05$ МПа. Відсутність мікробіоти.
Кт,Км.5.1.1, 5.2.1., 5.3.1, 5.4.1,5.5.1 Приготування та стерилізація композиції А в колбах та збірниках	Масова частка компонентів, температура час, мікробна контамінація.	Технічний термометр, годинник, манометр, технічні ваги, мірний циліндр, Мікробіологічний метод, розведення та висів на чашки Петрі.	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації.	$t=112^{\circ}\text{C}$, $\tau=40$ хв, $p=0,05$ МПа. Відсутність мікробіоти.
Кт, Км. 5.1.2.1, 5.2.2.1, 5.3.2.1, 5.4.2.1,5.5.2.1 Приготування та стерилізація композиції Б в колбах та збірниках	Масова частка солі, температура час, тиск, мікробна контамінація.	Термометр технічний, годинник, манометр, технічні ваги, мірний циліндр.	Температура визначається безперервно під час стерилізації, Мікробіологічний контроль після стер.	$t=150^{\circ}\text{C}$, $p=0,05$ МПа, $\tau=30$ хв, Відсутність мікробіоти.

Кт,Км.5.1.3, 5.2.3., 5.3.3, 5.4.3,5.5.3 Приготування та стерилізація композиції В в колбах та збірниках	Масова частка компонентів, температура час, мікробна контамінація.	Технічний термометр, годинник, манометр, технічні ваги, мірний циліндр, Мікробіологічний метод, розведення та висів на чашки Петрі.	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації.	t=131°C, τ=40хв, p=0,15МПа. Відсутність мікробіоти.
Кт, Км. 5.1.4, 5.2.4, 5.3.4, 5.4.4,5.5.4 Приготування та стерилізація композиції Г в колбах та збірниках	Масова частка компонентів, температура час, мікробна контамінація.	Термометр технічний, годинник, манометр, технічні ваги, мірний циліндр.	Температура визначається безперервно під час стерилізації, Мікробіологічний контроль після стер.	t=131°C, τ=40хв, p=0,15МПа. Відсутність мікробіоти.
Кт, Км. 5.1.5, 5.2.5, 5.3.5, 5.4.5,5.5.5 Приготування та стерилізація композиції Д в колбах та збірниках	Масова частка компонентів, температура час, мікробна контамінація.	Технічний термометр, годинник, манометр, технічні ваги, мірний циліндр, Мікробіологічний метод, розведення та висів на чашки Петрі.	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації.	t=131°C, τ=40хв, p=0,15МПа. Відсутність мікробіоти
Кт , Км 6.3 Вирощування посівного матеріалу для засіву колб	Відсутність сторонньої мікрофлори, температура, тривалість вирощування	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний метод, розведення та висів на чашки Петрі.	Мікробіологічний контроль після вирощування. Температура визначається безперервно під час вирощування.	t = 30-25 °С, τ=25 год. Відсутність сторонньої мікрофлори
Км,Кт. 6.4 Вирощуванні інокуляту в колбах на качалці.	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, швидкість перемішування, рН середовища, мікробіологічна чистота культури.	Термометр технічний, годинник рН-метр. Мікробіологічний метод, розведення та висів на чашки Петрі.	Температура, рН середовища, швидкість перемішування контролюється безпосередньо під час процесу, а мікробіологічна чистота культури після вирощування культури.	t = 25-30 °С, τ=25год, рН=7, Відсутність сторонньої мікрофлори.

Кт,Км 6.5. Вирощування посівного матеріалу в посівному апаратіV=20	Тривалість вирощування, температура, перемішування, мікробіологічна чистота культура.	Термометр технічний, годинник рН-метр, мікробіологічний метод, розведення та висів на чашки Петрі.	Під час вирощування культури у посівному апараті. Відбір проби культуральної рідини відбувається кожні 8 год.	t = 25-30 °С, τ= 25 год, рН=7, Аерація 1,5 л/л хв Відсутність сторонньої мікрофлори.
Кт,Км 6.6 Вирощування посівного матеріалу в посівному апаратіV=160	Тривалість вирощування, температура, перемішування, мікробіологічна чистота культура.	Термометр технічний, годинник рН-метр, мікробіологічний метод, розведення та висів на чашки Петрі.	Під час вирощування культури у посівному апараті. Відбір проби культуральної рідини відбувається кожні 8 год	t = 25-30 °С, τ= 25 год, рН=7, Аерація 1,5 л/л хв Відсутність сторонньої мікрофлори.
Кт,Км 6.7 Вирощування посівного матеріалу в посівному апаратіV=1250	Тривалість вирощування, температура, перемішування, мікробіологічна чистота культура.	Термометр технічний, годинник рН-метр, мікробіологічний метод, розведення та висів на чашки Петрі.	Під час вирощування культури у посівному апараті. Відбір проби культуральної рідини відбувається кожні 8 год	t = 25-30 °С, τ= 25 год, рН=7, Аерація 1,5 л/л хв Відсутність сторонньої мікрофлори.
Кт,Км,Кх 7.1 Виробниче культивування в ферментері V=12500	Культуральна рідина, температура, тривалість культивування, швидкість обертів мішалки, мікробіологічна чистота культури, концентрація антибіотику.	Термометр технічний, годинник ФЕК, хімічний спосіб визначення концентрації антибіотику за допомогою хроматографа.	Під час вирощування культури у ферментері. Відбір проби культуральної рідини відбувається кожні 4-6 год.	t = 25 °С, Аерація 1,5 л/л хв. τ= 50 год. Концентрація антибіотику – 2.5 г\л. Відсутність сторонньої мікрофлори.

Кт, Км, Кх 9	Час, швидкість обертів	Годинник, тахометр, рН розчину, концентрація розчину.	Під час центрифугування	$\tau = 5-30$ хв; N= 3000-5000 об/хв., рН=4,5, С р-ну (НСІ) 10%
Кт, Км 10	Час, швидкість обертів, концентрація розчину.	Годинник, тахометр, хімічний спосіб, ФЕК	Під час процесу екстрагування антибіотику з гелю.	Текст = 4 год; N= 50 об/хв Ср-ну метидізобутилкетон = 96%
Кт, Км 11.1	Час, температура	Годинник, технічний термометр.	Процес випарювання	$\tau = 1$ год; 70 °С
Км, Кт 11.3	Температура входу та виходу розчину	Технічний термометр	Під час процесу кристалізації	tвхід. = 50-60 °С; tвихід. = 20-30 °С
Км, Кт 12	Час, температура	Годинник, технічний термометр	Під час процесу сушіння	t=40 °С, $\tau = 30$ хв

Упродовж культивування періодично (кожні 8 год) відбирають проби культуральної рідини для мікробіологічного контролю, визначення цільового продукту, а також вмісту джерела вуглецю (глюкоза) і азоту (сульфат амонію, соєве борошно, кукурудзяний екстракт).

Мікробіологічний контроль здійснюється розсівом на чашки Петрі з агаризованими середовищами і мікроскопуванням. Культуральну рідину розсівають петлею до ізольованих колоній на чашки Петрі з м'ясо-пептонним агаром (МПА) для виявлення бактерій. Для мікроскопування використовують препарати «роздавлена крапля». Препарат «роздавлена крапля» готують на знежиреному предметному склі, на яке наносять маленьку краплю культуральної рідини, накривають накривним скельцем і розглядають з об'єктивом 40х, а також мікроскопують препарат з імерсійною системою.

При мікроскопії ванні спостерігаємо такі ознаки даного мікроорганізму: пряма або незначно вигнута паличка, клітини розташовуються поодинокі, парами або короткими ланцюжками, має полярно розташовані джгутики.

Показники росту і синтезу

Кількісне визначення цільового продукту.

Підготовка проби: Культуральну рідину центрифугують (500 об/хв, упродовж 20 хв). Осад біомаси тричі промивають дистильованою водою, центрифугуючи. Біомасу висушують у вакуумі за температури 60°C до постійної маси. Відбирають 20,0 мг субстанції розчиняють у 0,01 М розчині кислоти хлористоводневої і доводять об'єм тим самим розчинником до 25,0 мл.

Визначення проводять методом рідинної хроматографії.

Хроматографування проводять на рідинному хроматографії УД-детектором за таких умов: колонка розміром 0,25 м x 4,6 мм, температура колонки 60 оС, рухома фаза: 60,0 розчину етилацетату поміщають у колбу місткістю 1000 мл, розчиняють у 200 мл води, додають 25 мл суміші хлороформ-метанол-оцтова кислота (93:5:2), одержаний розчин доводять водою до об'єму 1000 мл; швидкість рухомої фази 1,0мл/хв.; детектування за довжиною хвилі 254 нм [5].

Кількісне визначення розраховують, виходячи з величини аналітичного сигналу, виміряного за допомогою детектора, який під'єднується до виходу з хроматографічної колонки.

Визначення концентрації джерела амінного азоту

Найбільш розповсюдженим, точним та простим способом визначення амінокислотного азоту є мідний спосіб за Попом та Стівенсом. Вміст азоту амінокислот визначають за допомогою методу, який заснований на тому, що α -амінокислоти та пептиди утворюють внутрішньокмплексні зв'язки з іонами двухвалентної міді. Вказані зв'язки реагують з йодистим калієм в кислому середовищі, при цьому виділяється йод, який відтитровують сульфідом натрію [96].

1 мл 0,01 н розчину гіпосульфїту відповідає 0,28 мг азоту амінокислот.

Хід визначення:

Реактиви: а) желатин, 1 % розчин; б) панкреатин: 2 г препарату розчиняють в 20 мл 1 % розчину гідрокарбонату натрію, після цього розчин фільтрують; в) хлорна мідь: 27,3 г солі розчиняють в мірній колбі на 1 л і доводять водою до мітки; г) натрій фосфорнокислий трьохзаміщений

($\text{Na}_3\text{PO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$) 68,5 г солі розчиняють у мірній колбі на 1 л та доводять водою до мітки; д) боратний буфер (рН 8,8): 28,6 г тетраборнокислого натрію розчиняють в 750 мл води (в мірній колбі на 1 л), додають 50 мл нормального розчину соляної кислоти та доводять водою до мітки; е) суспензія фосфорнокислої міді в боратному буфері: 100 мл розчину хлорної міді змішують з 200 мл розчину трьохзаміщеного фосфорнокислого натрію і додають 200 мл боратного буферного розчину; є) тимолфталейн: 0,25 г індикатору розчиняють в 100 мл 50 % етилового спирту; ж) тіосульфат натрію, гіпосульфит ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$), 0,1 н розчин. Перед застосуванням з нього готують 0,01 н розчин; з) крохмаль, 0,5 % розчин; и) йодистий калій, 10 % розчин. Готують перед застосуванням; і) концентрована оцтова кислота; ї) 10 % розчин три хлороцтової кислоти; й) їдкий натр, 1 н розчин.

Нумерують чотири конічні колби ємністю 50 мл. У всі колби вносять по 2 мл розчину панкреатину. В колбах 3 і 4 нагріванням в киплячій водяній бані протягом 5 хв руйнують ферменти, в колбах 1 і 2 ферменти залишаються активними [897].

В колби 1 та 3 піпеткою вносять по 20 мл розчину желатини, в колби 2 та 4 – по 20 мл дистильованої води. Розчини у всіх колбах премішують та відбирають з кожної колби по 2 – 5 мл суміші в мірні колби по 25 мл для визначення азоту амінокислот.

В кожну мірну колбу ще до внесення суміші наливають по 2 мл 10 % розчину трихлороцтової кислоти для інактивації ферментів. В першу чергу додають трихлороцтову кислоту в колбу 1.

В розчинах, внесених в мірні колби, визначають вміст азоту амінокислот.

Всі вихідні суміші (в конічних колбах) ставлять на 1 год в термостат при температурі 38 °С.

Для визначення в кожну мірну колбу додають 2 краплі розчину тимолфталейну та по краплях 1 н розчин їдкого натру до світло-голубого кольору (рН 10,2). До нейтралізованих розчинів доливають по 10 мл суспензії фосфорнокислої міді та ретельно перемішують. Якщо весь об'єм суспензії прореагував додають ще 5 мл.

Колби доводять водою до мітки, добре перемішують та фільтрують суміш через паперовий фільтр або центрифугують. Фільтрат має бути повністю прозорим.

В дві конічні колби піпеткою вносять по 10 мл фільтрату, додають по 0,5 мл оцтової кислоти та 5 мл розчину йодистого калію, в той самий час йод, що виділився відтитровують 0,01 н розчином тіосульфату натрію. Розчин тіосульфату додають до тих пір, поки колір рідини в колбі не стане світло-жовтою, після чого доливають 5-6 крапель крохмалю і дотитровують тіосульфатом до стійкого синього забарвлення.

На основі результатів титрування обчислюють вміст азоту амінокислот у всьому об'ємі кожного з вихідних розчинів (в конічних колбах). Дані, що характеризують вміст амінного азоту в колбах 2 або 4, будуть вказувати на кількість вільного азоту амінокислот в 2 мл розчину панкреатину. Різниця у вмісті азоту амінокислот в колбах 3 та 4 вказує на кількість азоту вільних аміногруп в 20 мл розчину желатину. Різниця у вмісті амінного азоту в колбах 1 та 2 має бути майже такою, як і в колбах 3 та 4.

Після години інкубації колби виймають з термостату та повторюють визначення амінного азоту. Дані аналізу перераховують на вихідний об'єм суміші – 22 мл (2 мл розчину панкреатину + 20 мл розчину желатину або води)[87].

Різницю між вмістом амінного азоту в колбах 3 та 4 має бути такою ж, як і до інкубації, різниця ж між колбами 1 та 2 має зрости після інкубації.

Визначення концентрації амонійного азоту. Джерелом азоту всередовищі для культивування є сульфат амонію.

Суть методу. Метод Несслера базується на утворенні забарвленої важкорозчинної сполуки при взаємодії реактиву Несслера ($\text{NH}_2\text{Hg}_2\text{I}$) з аміаком в нейтральних або лужних розчинах: $2\text{Hgb} + \text{NH}_3 + \text{OH} = \text{NH}_2\text{Hg}_2\text{I} + 5\text{I} + \text{H}_2\text{O}$.

Великого надлишку луку слід уникати, оскільки може відбутися розкладання $\text{NH}_2\text{Hg}_2\text{I}$ з утворенням оксиду ртуті. Забарвлена сполука $\text{NH}_2\text{Hg}_2\text{I}$

схильна до утворення негативно заряджених колоїдних частинок. Для отримання рівномірної і стійкої суспензії в розчин вводять захисний колоїд желатин, полівініловий спирт. При малих концентраціях аміаку колоїдні розчини мають жовте забарвлення, при збільшенні концентрації з'являється бурий відтінок. Отримання в ході аналізу колоїдних розчинів, здатних до коагуляції, знижує відтворюваність результатів аналізу, одержуваних методом Несслера [97].

Відбір проби. Для визначення аміаку до 1 мл супернатанту культуральної рідини додають 1 мл реактиву Несслера.

Коефіцієнт екстинції вимірюють при довжині хвилі 400-425 нм. Концентрацію аміаку визначають за калібрувальним графіком. Фотометричному визначенню азоту методом Несслера заважають іони, що випадають в осад у лужному середовищі і утворюють нерозчинні сполуки з йодид-іонами та іонами ртуті (магній, марганець, залізо, титан, сульфід-іони та ін.).

Індофеноловий метод більш зручний, оскільки сполука синього кольору, яка використовується для фотометричного визначення аміаку, утворює істинний розчин і максимум світлопоглинання цієї сполуки знаходиться у видимій області спектра. Визначення проводять при довжині хвилі 625 нм. В основі методу лежить реакція аміаку з фенолом за присутності окисника гіпохлориту або гіпоброміту натрію. Продуктом реакції є індофенол, який у лужному середовищі забарвлює розчини в синій колір [98].

Кількісне визначення джерела вуглецю

Визначення глюкози поляриметричним методом. Цукри мають властивість обертати площину поляризованого променя світла, яке проходить через їхні розчини. Це зумовлюється наявністю в їх молекулах асиметричних атомів вуглецю. Оптична активність цукрів залежить від товщини шару розчину, їх концентрації та питомого обертання.

Визначення оптичної активності глюкози проводять за допомогою поляриметра. Головними робочими частинами поляриметра є: поляризатор (пристосування для поляризації світла), аналізатор (пристосування для

визначення кута обертання площини поляризації) і поляризаційна трубка, яка заповнюється досліджуваним розчином і міститься між поляризатором і аналізатором. Поляризаційну трубку заповнюють досліджуваним розчином, закривають скельцем і загвинчують гайкою (у трубці не повинно залишатися бульбашок повітря). За допомогою рукоятки установлюють рівномірне освітлення поля зору і роблять відлік по шкалі. 1° шкали поляриметра при довжині трубки 2 дм відповідає певному вмісту цукру у 100 мл розчину. Для глюкози він дорівнює – 0,330 г. Помноживши показники поляриметра на відповідні величини, визначають концентрацію лактози у 100 мл досліджуваного розчину [99].

9. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА ГОТОВОГО ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

9.1. Обґрунтування вибору попередньої підготовки компонентів основи мазі

Важливим компонентом мазі є основа, як носій лікарських речовин, що надає мазі об'єму та фізико-технологічних властивостей.

Вибір основи залежить від фізико-хімічних властивостей введених до них лікарських речовин і характеру дії мазі. Основа, яка б забезпечувала максимальний терапевтичний ефект мазі, повинна відповідати таким вимогам:

- мати необхідні структурно-механічні властивості;
- мати необхідну абсорбційну здатність;
- не змінюватися під дією чинників зовнішнього середовища і не вступати в реакцію із введеними до неї лікарськими речовинами;
- мати хімічну стійкість;
- бути фармакологічно індиферентною, не повинна чинити подразливої та сенсibiliзуючої дії, сприяти зберіганню початкового значення рН шкіри або слизової оболонки;
- не піддаватися мікробній контамінації;
- властивості основи повинні відповідати призначенню мазі [15].

В якості компонентів основ мазей використовують: вазелін, ланолін, парафін, спермацет, гідрогенізовані рослинні олії, воски, поліетиленгліколі, натрію лаурилсульфат, твіни, поліоксietиленгліколевi етери вищих жирних кислот, солі вищих жирних кислот, церезин, натрій піросульфiт, карбомери, альгінова кислота та її солі, похідні целюлози, поліетилен, плоксамери або проксаноли, бентоніт.

Основами для муропіцинових мазей є: вазелін, ланолін, церезин і натрій піросульфiт.

					НУХТ БТЕК 02.02.13 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Стариченко К.М.			Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва готового лікарського засобу	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Пенчук Ю.М.					111	18
Реценз.						Кафедра БТМ ₁₁₆		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Однак, не бажаним є використання церезину, так як він володіє подразнюючою дією, натрій піросульфат – при потраплянні в очі може викликати пошкодження очей.

Тому основою муропіцинової мазі очної є ланолін і вазелін. За функціональним призначенням ланолін та вазелін класифікують як м'яку основу – носій [16]. Висока в'язкість середовища в мазі практично виключає седиментацію твердої фази. Тому на відміну від рідких суспензій у даному випадку немає потреби використання будь-яких стабілізаторів.

Стадія «Приготування основи мазі» включає технологічні операції просіювання, розплавлення та змішування компонентів основи, з наступним видаленням механічних домішок методом фільтрування.

Існує декілька способів отримання основи. Перший спосіб полягає в тому, що розчин лікарської речовини вводять в профільтовану нагріту основу, отриману сплавленням компонентів, перемішуванням, термостатуванням суміші та охолодженням при зменшенні швидкості перемішування.

Недоліком даного способу є використання лише фільтрування основи для її попередньої підготовки. Однак фільтрування забезпечує очищення основи лише від механічних часток, але не забезпечує очищення від мікроорганізмів та належного рівня вологості. Це порушує стабільність препаратів при подальшому зберіганні.

Альтернативою вищезазначеного способу є використання додаткових стадій зневоднення та стерилізації компонентів маzewої основи. При цьому проводять контроль перекисного числа та відсутності відновлюючих речовин у вазеліні.

Однак, обов'язковою умовою є попередня стерилізація маzewої основи. Використання нестерильних ланоліну безводного та вазеліну не забезпечує мікробіологічну чистоту мазі та призводить до інактивації антибіотиків у маzewих композиціях.

При підготовці вазеліну проводять його попереднє зневоднення для запобігання гідролітичної деструкції та забезпечення стабільності маzewої композиції.

Нагрівання мазевих композицій нижче за 28°C погіршує перемішування та фасовку мазі. Перевищення цієї температурної межі навпаки веде до прискорення процесів деструкції лікарських речовин у мазі.

Тому підготовку мазевих композицій проводять за температури 28°C.

Таким чином, при підготовці компонентів основи для мазі муропіцинової проводять зневоднення вазеліну, змішування його з ланоліном та стерилізацію суміші.

9.2 Обґрунтування основних стадій технологічного процесу

виготовлення мазі

До основних стадій одержання мазі відносяться підготовку субстанції муропіцину шляхом подрібнення та змішування основи мазі з лікарською речовиною (гомогенізація).

Для подрібнення лікарської речовини відповідного розміру частинок субстанції муропіцина використовують механізми і машини різних конструкцій – 60 мкм, необхідно використовувати обладнання колоїдного помолу, способом стирання. Такий розмір гранул можна отримати використовуючи подрібнення на млині [18].

Для надання однорідної структури муропіцинової мазі застосовують гомогенізацію. Гомогенізація — це надання однорідної структури або однорідних властивостей мінеральній масі, сумішам, сполукам, розчинам або емульсіям шляхом механічного перемішування, усереднення, хімічного чи температурного впливу на них.

Для отримання гомогенних сумішей використовують спеціальні апарати (гомогенізатори).

9.3 Обґрунтування вибору обладнання для приготування основи

Для зневоднення вазелін розплавляють за температури 60-70°C, з цією метою використовують електокотел, або котли з паровими сорочками. За формою вони можуть бути циліндричними або сферичними, а для зливу розтопленої маси їх оснащують зливними кранами або роблять перекидними. Мазеві котли виготовляють з міді або чавуну і покривають лудою або емаллю. Вони включені до групи допоміжного обладнання для виробництва.

Приготування компонентів основи проводиться під вакуумом у спеціальних реакторах. Вакуумний реактор – тришаровий електрообігріваний реактор закритого типу з двигуном, редуктором. Вакуумний реактор являє собою вертикальну посудину оснащену мішалкою, паровою сорочкою і термоізоляцією. Внутрішню колбу варильного котла виготовляють з нержавіючої сталі. Зовнішню – з нержавіючої сталі [17].

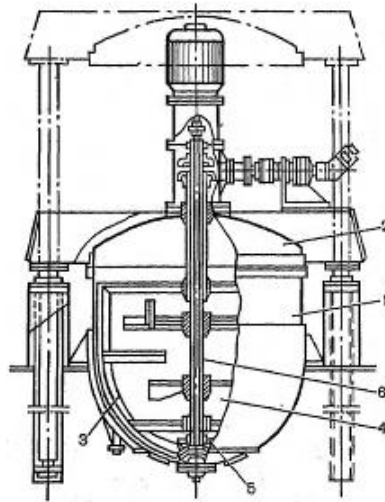


Рис. 9.1 Пристрій реактора – змішувача: 1 - корпус, 2 - кришка, 3,4,5 - мішалки, 6 - парова сорочка.

Вакуумний реактор з співвісними мішалками IMIXING (Рис.9.2) представлений герметичним посудиною, оснащений теплообмінною сорочкою і парою співвісних мішалок - лопатної і рамної. Рамна мішалка володіє плаваючими скребками. Вакуумний реактор укомплектований оглядовим люком з підсвічуванням і воронкою для внесення компонентів. Пристрій поставляється в комплекті з пультом управління.



Рис 9.2. Вакуумний реактор з співвісними мішалками IMIXING (Росія)

Переваги:

- швидка обробка продукту;
- готова продукція зберігається значно довше;
- установка компактна і проста в обслуговуванні;
- на виході отримують гомогенний стабільний продукт, без повітряних вкраплень.

Технічні характеристики:

Робоча місткість, л	50-20000 (замовлення)
Розташування перемішуючого пристрою	вертикальне
Встановлена потужність, кВт	3,0-45
Швидкість обертання мішалки, об/хв	0-18000
Основний матеріал	сталь 12X18H10Табо AISI 316
Робочий тиск пари в сорочці, МПа	0,2-0,4
Робоче розрідження пара в корпусі апарату, Мпа	до 0,03

Вакуумний реактор NORMIT (Рис. 9.3) являє собою тришарову герметичну ємність з теплообмінною сорочкою, оснащену двома співвісними мішалками - рамною (з плаваючими скребками) і лопатною. Реактор оснащений оглядовим люком з підсвічуванням, лійкою для додавання компонентів, пультом управління. В комплект поставки входять гомогенізатор і вакуумний насос. Матеріал виготовлення - високоякісна нержавіюча сталь. Рама виготовлена з конструкційної сталі.

Переваги:

- Короткий робочий цикл обробки продукту
- Гомогенний стабільний продукт на виході
- Відсутність в продукті повітряних вкраплень, що збільшує термін зберігання готового продукту.

- Компактність установки і простота обслуговування
- Низькі витрати електроенергії
- Низькі експлуатаційні витрати
- Висока продуктивність
- Висока надійність
- Легке очищення і обслуговування
- Відсутність "мертвих зон"
- Висока безпека використання

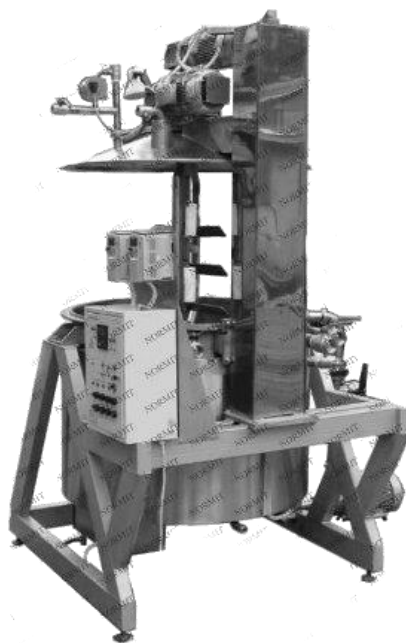


Рис 9.3. Вакуумний реактор NORMIT з співвісними мішалками (Росія).

Технічні характеристики:

Геометричний об'єм, л	100	300	500	600	800	1000
Частота обертання зовнішньої тихохідної мешалки об/хв	0 – 60					
Частота обертання внутрішньої лопастной мішалки, об/хв.	0 – 100					
Потужність приводу змішувача, кВт	11 – 45					
Глибина вакууму	0,8					
Робоча температура, °С	До 200					
Маса, кг	280	350	450	540	620	800

Отже, нами обрано вакуумний реактор NORMIT, так як цей реактор має більше переваг: короткий робочий цикл обробки продукту, гомогенний стабільний продукт на виході, компактність установки і простота обслуговування, низькі витрати електроенергії, низькі експлуатаційні витрати, висока продуктивність, відсутність "мертвих зон", а ніж вакуумний реактор IMIXING

9.4. Обґрунтування вибору обладнання для подрібнення муропіцину

Терапевтична активність мазей залежить від ступеня дисперсності нерозчинного лікарської речовини. Отже, найбільш важливий технологічний момент - можливо більш тонке подрібнення твердої фази [18].

Млин Introduction (Рис. 9.4) – добре подрібнює матеріали, які не містять волокон, не тягучі і не важливо тверді вони або м'які. Саме тому дане устаткування широко застосовне в медицині, фармацевтиці, харчової та хімічної промисловості.



Рис. 9.4 Млин Introduction (Китай).

Характеристика:

Продуктивність, кг/год	100-500
Розмір гранул на вході, мм	<100
Розмір гранул на виході, мм	0,5-20
Швидкість основної осі, об/хв.	400
Потужність двигуна, кВт	3
Вага, кг	250
Габаритні розміри, мм	650 × 700 × 1200

Млин JYU MILL M-2 (Рис. 9.5) - має широкий спектр застосування в хімічній та фармацевтичній галузях. Фракції подрібнення, в середньому, від 20 до 800 мкм (0,02 – 0,8 мм), залежно від продукту.



Рис 9.5. Млин JYU MILL M-2 (Швейцарія).

Характеристика:

Продуктивність, кг/год	10 000
Потужність, кВт/год	2,2
Розмір гранул на вході, мм	<100
Розмір гранул на виході, мм	0,02 – 0,8
Розміри(ширина x довжина x висота), мм	600x300x1700
Вага, кг	30
Ел. характеристики	220 V, 50 Гц
Швидкість обертання, об/хв	700

Отже, нами обрано млин JYU MILL M-2, так як використання цього апарату дозволить одержати подрібнену масу субстанції муропіцину необхідного розміру – 60 мкм.

9.5. Обґрунтування вибору обладнання для гомогенізації

Для надання однорідної структури муропіциновій мазі застосовують гомогенізацію. Гомогенізація — це надання однорідної структури або однорідних властивостей мінеральній масі, сумішам, сполукам, розчинам або емульсіям шляхом механічного перемішування, усереднення, хімічного чи температурного впливу на них.

Для отримання гомогенних сумішей використовують спеціальні апарати — гомогенізатори.

Змішувач–гомогенізатор типу MZUTL 1000 (URLIŃSKI (Польща) (Рис. 9.6). Відповідає вимогам GMP. Реактор пристосований до роботи під вакуумом і при підвищеному тиску, якірна мішалка для забезпечення оптимального теплообміну перемішуються продуктів і відсутності «мертвих» точок у всій зоні змішування оснащена тефлоновими скребками для зняття продукту з внутрішніх стінок змішувача.

Численні технологічні патрубки полегшують технологам дозування сировинних компонентів, наприклад: подачу рідких компонентів безпосередньо над гомогенізатором, подачу порошкових субстанцій під поверхню продукту або ж введення сировинної фракції в потік продукту в циркуляційному контурі by – pass.



Рис 9.6. Змішувач-гомогенізатор типу MZUTL 1000 (Польща).

Технічна характеристика гомогенізатора MZUTL 1000

	Параметри гомогенізатора	Параметри мішалки
Робочий об'єм, л	1000	
Потужність, Кв	4	2,2
Швидкість обертання, об/хв	0 – 3500	0 – 70
Живлення	380 В/50 Гц	

Вакуумний гомогенізатор ZRJ-1000B (ООО «ДНІПР ІНВЕСТ ПРОМ» (Україна) (Рис. 9.7) призначений для виробників фармацевтичної й косметичної промисловостей, що випускають короткі серії препаратів. Робочий об'єм установки в межах 20 – 2000 літрів є найбільш істотним при виробництві препаратів з дорогої сировини, а також при частій зміні асортименту продукції.



Рис. 9.7. Вакуумний гомогенізатор ZRJ-1000B (Україна).

Технічна характеристика гомогенізатора ZRJ-1000B:

	Параметри гомогенізатора	Параметри мішалки
Живлення	380 В/50 Гц	
Швидкість обертання, об/хв	0 – 3500 об/хв	0 – 70 об/хв
Потужність, Кв	11 Кв	5,5 Кв

Переваги: низькі втрати і короткий час підготовки установки при частій зміні продукту.

Отже, нами обрано вакуумний гомогенізатор ZRJ-1000B, який характеризується необхідними технологічними параметрами та потужністю: гомогенізатора – 11 Кв; мішалки – 5,5 Кв.

9.6 Обґрунтування вибору упаковки

Упаковування мазей проводять в ємкості з різних матеріалів. Мазі, що містять водну фазу або леткі компоненти, упаковують у посудини, які запобігають їх випаровуванню.

Для упакування мазей часто використовуються банки скляні, порцелянові, із полімерних матеріалів (полістирол) об'ємом 10, 20, 30, 50 і 100 мл, які закриваються кришками, що загвинчуються.

Найбільш зручною і сучасною упаковкою для мазей є туби, виготовлені з металу або полімерних матеріалів. Туба є найбільш гігієнічною і зручною упаковкою; на неї можна наносити поділки, що забезпечують дозування мазі, до неї можуть додаватися насадки (аплікатори) з пластмаси, які дають змогу вводити мазь у порожнини.

З точки зору корисних властивостей, туба взагалі вважається дуже вдалим і зручним засобом упаковки. Туба займає мало місця, вона містка, зручна в споживанні, дозування – чіткі і прості. Важливий також економічний ефект, що на відміну від інших видів упаковки, вміст з алюмінієвої туби можна видавлювати майже стовідсотково. У разі дорогих ліків це перевага алюмінієвої туби особливо високо цінується.

Для металевих туб використовують алюміній марок А6 і А7. Їхню внутрішню поверхню вкривають лаком (ФД-559), а зовнішню – емалевою фарбою, на яку потім наносять маркування. Як полімерні матеріали для виготовлення туб використовують поліетилен низького і високого тиску, поліпропілен, полівінілхлорид. Для герметизації отвір туби закривають суцільною тонкою алюмінієвою плівкою, зверху нагвинчується конічний бушон. Бушон має гострий шип, яким проколюють отвір туби при використанні [17].

Металеві туби володіють однією важливою властивістю – це відсутність всмоктуючого ефекту після стиснення туби. Як відомо, у алюмінієвої туби немає так званої «пам'яті форми», тобто після стиснення туби її стінки деформуються і не повертаються до вихідної форми.

Тоді як у пластмасових туб з ламінату це відбувається якраз навпаки. При цьому в тубу всмоктується, по-перше повітря, яке призводить до окислення вмісту, і по-друге видавлена і не повністю використана частина препарату, частково контамінована, всмоктується назад в тубу. До речі, повітря, що потрапило всередину туби, може сильно вплинути на якість препарату і значно

скоротити терміни його придатності. У деяких препаратів взагалі заборонений контакт з киснем або повітрям.

У технології виробництва Муропіцинової мазі фасування і дозування продукту будемо здійснювати у туби алюмінієві.

Переваги алюмінієвих туб:

- світлонепроникність,
- стійкість матеріалу,
- інертність по відношенню до вмісту,
- простота у використанні,
- свідоцтво цілісності упаковки (tamper proof evidence),
- відсутність всмоктуючого ефекту.

Ці та інші властивості свідчать про широкі можливості використання алюмінієвих туб в якості упаковки, що виконує, як і інші види упаковок, кілька основних функцій: захисну, утилітарну, логістичну, маркетингову естетичну та екологічну.

Алюмінієві стінки туби досконало охороняють вміст від сонячного світла і від шкідливого УФ випромінювання. Більш того, алюміній діє як бездоганний бар'єр, що перешкоджає проникненню чужорідних речовин всередину туби, а також запобігає витоку важливих і дороговартісних активних добавок, які містяться в препараті. В результаті також зберігається специфічний запах мазі [17].

Алюмінієві туби прості в транспортуванні, компактні, не б'ються і мають невелику вагу.

Отже, всі вищевикладені факти свідчать про те, що алюмінієві туби являються найоптимальнішою упаковкою для Муропіцинової мазі.

9.7 Обґрунтування вибору обладнання для наповнення туб

Обладнання для наповнення туб повинно відповідати вимогам GMP, бути багато функціональним, автоматизованим, наповнення мазі повинно варіюватись, а також бути економічно вигідним. До такого обладнання відносяться апарат для наповнення туб моделі RGDF 120B та модель Nordenmatic 902.

Апарат для наповнення туб моделі RGDF 120 (ООО Гефест, Росія) (Рис. 9.8) призначений упаковки в металеві, пластмасові та ламіновані тубики і подальшого запаювання туб; забезпечена дозуючою помпою новітнього типу з нержавіючим сталевим клапаном типу «батерфляй». Машина вироблена за стандартами GMP.



Рис. 9.8. Модель RGDF 120 В (Росія).

Характеристика:

Матеріал туби	алюміній / пластмаса
Кількість гнізд для тубиків	40
Діаметр тубика, мм	16 – 40
Система запаювання	механічний загин / гаряче повітря
Об'єм наповнення, мл	30-200
Продуктивність, туб/хв.	60- 80
Потужність мотора, кВт	2,3
Розміри (Д * Ш * В), мм	2950 * 1310 * 2300
Вага, кг	3000
Стиснене повітря, МПа	0,5 - 0,7
Потужність, кВт	9,5
Довжина туби, мм	180

Модель Nordenmatic 902(«NORDEN», Швеція) (Рис. 9.9) є компактною тубонаповнювальною машиною, що працює зі швидкістю до 100 туб в хвилину.

Важливі характеристики моделі NM 902:

- 28 утримувачів туб в стандартній комплектації;
- простота установки опціональних пристроїв;
- можлива установка сервоприводу на станції наповнення;
- доступ до управління пневматикою простий і можливий без зупинки роботи машини;
- автоматична продувка туб;
- система управління Norden Easy Ware на базі системи електроуправління ELAU з окремою операторською панеллю;
- автоматичне припинення фасування за відсутності туб.

Спаювання пластикових і ламінатних труб здійснюється за допомогою запатентованої фірмою Norden системи запаювання гарячим повітрям HA-Sealing. Функція запаювання фігурного шва (система Design-A-Seal®) істотно розширює можливості туби як засобу упаковки.

Алюмінієві туби можуть бути закупорені в 1 - 2 - 3 (сідлоподібний згин) або 4 згину з гладкою або гофрованою поверхнею шва.

Багато функцій, які для моделі NM 902 є стандартними, зазвичай пропонуються іншими виробниками аналогічного обладнання в якості опцій.

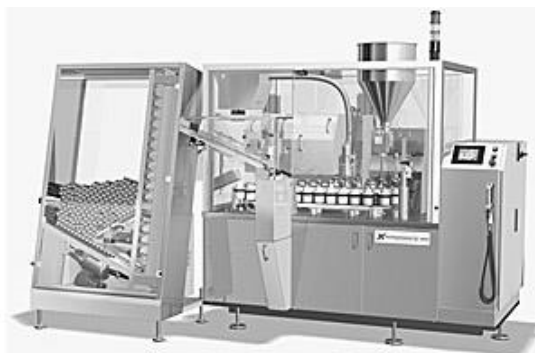


Рис. 9.9. Nordenmatic 902 (Швеція).

Характеристика:

Продуктивність, туб/хв.	100
Об'єм наповнення, мл	1-300
Довжина туби (станд.), мм	50-250
Діаметр туби, мм	10-50
Опція	Design-A-Seal® і Scoop Seal®
Система подачі туб	Робот, магазин, бункер або касета

Таким чином нами обрано тубонаповнюючу машину моделі Nordenmatic 902 («NORDEN», Швеція). Дана установка має рядом переваг порівняно з іншими машинами: високою продуктивністю, простотою установки опціональних пристроїв, компактністю, системою подачі туб за допомогою робота.

9.8 Пакування і маркування готової продукції

Пакування й оформлення готової продукції включає в себе пакування туб (разом з інструкціями по використанню) у картонні пачки, з наступним пакуванням пачок у коробки та обандеролюванням коробок клейкою стрічкою.

На сьогодні розроблено багато функціональні, автоматизовані, економічно вигідні.

Автомат призначений для укладання інструкцій і упаковки туб в пачки складається з наступних основних вузлів і механізмів:

- транспортеру подачі туб;
- каналу загрузки конвалюти;
- механізму формування пачки;
- вузла “СК” для складання інструкцій з каналом загрузки інструкцій;
- вузла вкладання інструкцій і туб у пачки;
- багатопозиційної станції закривання пачок;
- друкувального механізму.

Всі ці операції в змозі виконувати пакувальна лінія. При пакуванні туб у пачки на останні наноситься номер серії та дата виготовлення.

Горизонтальна автоматична картонуючий апарат моделі JC-CTM (ROLSTECH, Росія) (Рис. 9.10) для упаковки в пачку з послідуочим її закриттям.

Завдяки компактній конструкції машини для її розміщення не потрібно великої площі. Конвеєр подачі туб переміщує туби в передавальний вузол. Передавальний вузол горизонтально направляє туби на вхід вузла подачі. Пневматичний циліндр переміщує туби в станцію транспортування.

Станція транспортування використовується для переміщення туб у вузол картонування. Пневматичний циліндр заштовхує продукт в сформовану картонну пачку. Оператор закладає складені картонні пачки в магазин. Картонна пачка подається вниз за допомогою вакууму. Магазин не входить в базову комплектацію машини. Оператор розміщує попередньо складені інструкції в магазин. Розмір магазину регулюється в залежності від розміру інструкцій. Попередньо складена інструкція подається вниз за допомогою вакууму.

Картонна пачка подається вниз за допомогою вакууму і формується механічно.

Продукт та інструкція подаються всередину картону за допомогою пневматичного циліндра. Машина по напрямних закриває клапана картонної пачки і переміщує готовий продукт на вихід. Вузол нанесення тиснення на картонну пачку розташовується на протилежній стороні від оператора. Максимальне тиснення – 3 лінії по 12 символів.



Рис 9.10. Модель JC-STM (Росія).

Характеристика

Продуктивність, пачок/хв.	70
Потужність, кВт	1,5
Споживання електроенергії	220В, 50Гц, 1 фаза.
Розмір картону(довжина x ширина x висота), мм	50–220 x 25–90 x 15–70
Габарити (довжина x ширина x висота), мм	2455 x 965 x 1440
Вага, кг	750

У моделі AS100 (PROMATIC, Італія) (Рис. 9.11) «балконний» тип конструкції машини дозволяє відокремити механічну частину від робочої пакувальної частини, що відповідає всім гігієнічним нормам і нормам з технічної безпеки. Пакування продукту в картонну пачку проводиться покроково і за допомогою електричних синхронізуючих систем. Керування машиною здійснюється через сенсорний дисплей. Ручне колесо для настройки вузлів машини під нову довжину картонної пачки. В якості основних вузлів приводу машини використовуються копії. Пневматична система захоплення картонної пачки. Для завантаження картонних пачок магазин машини можна встановлювати в горизонтальне положення. Є датчик наявності мінімальної кількості пачок. Використання програмно-логічного контролера в управлінні машиною дозволяє зберігати налаштування для 100 різних типів продукції. Система визначення відсутності продукту і відбраковування.

Опції:

- чорнильний принтер,
- автоматичний пристрій складання інструкцій,
- система зчитування штрих-коду на коробці,
- система зчитування штрих-коду на інструкції,
- додатковий конвеєр на виході машин,
- додатковий набір форматних частин.



Рис 9.11. Модель AS100 (Італія).

Характеристика:

Метод закриття пачки	Згорання
Максимальна швидкість, пачок/хв.	100
Електропідключення	220 В, 50 Гц
Потужність, кВт	1
Витрата повітря, м³/цикл	2

Таким чином, обрано пакувальну машину моделі AS100 (PROMATIC (Італія), оскільки це обладнання має такі переваги: висока продуктивність, наявність системи визначення відсутності продукту і відбраковування, датчик наявності мінімальної кількості пачок.

РОЗДІЛ 10. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Таблиця 10.1

Позиція	Позначка	Найменування	Кількість
1	2	3	4
КП-1 КП-2 КП-3	Терези електронні	Тип Europe-6000. Діапазон зважування, кг: до 100. Ціна поділки шкали, мг: 100. Гранично припустима похибка: при зважуванні від 2 г до 5000 г - $\pm 50,0$ мг; від 5000 г і вище - $\pm 100,0$ мг. Виробник: фірма «Gibertini», Італія.	3
Ф-7	Фільтр	Фільтр обтягнутий двома шарами капронової сітки з діаметром пор від 0,1 до 3 мікрон.	1
Ек-4	Електрокотел ЕК-40	Електрокотел АРЖ – 0,6. Об'єм: 600 л. Потужність: 35 кВт. швидкість обертання мішалки від 10 до 200 об/хв, наявний пульт управління, електрохімполовка (пасивація) зварних швів. Виробник: Normit (Франція).	1
3-6 3-8 3-9	Вакуумний-реактор	Геометричний об'єм, 600 л, Частота обертання зовнішньої тихохідної мешалки 60 об/хв., Частота обертання внутрішньої лопастної мішалки, 100 об/хв., Потужність приводу змішувача, 45 кВт, Глибина вакууму 0,8, Робоча температура, до 200°C	3
ММ-5	Молотковий млин	Фракції подрібнення, в середньому, від 20 до 800 мкм	1
-10	Гоменізатор	Гомогенізатор марки "NORMIT" з лінійною швидкістю до 28 м/с з плавним регулюванням обертальної швидкості, що забезпечує інтенсивну гомогенізацію в системі циркуляції в зовнішньому контурі by – pass	1
ПМ – 11	Тубонаповнююча машина	Автомат для наповнення туб Nordenmatic 902. Продуктивність: 100 туб/хв. Об'єм наповнення: 1-300 мл. Довжина туби (станд.): 50-250 мм. Діаметр туби: 10-50 мм.	1

Design-A-Seal ® i Scoop Seal ®:

НУХТ БТЕК 02.02.13 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
					СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	Літ.	Арк.	Акрушів
Розроб.		Стариченко К.М.						
Перевір.		Пенчук Ю.М.					129	2
Реценз.						Кафедра БТМ 134		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

1	2	3	4
		опція. Система подачі туб: робот, магазин, бункер або касета. Автоматична продувка туб. Виробник: («NORDEN», Швеція).	
ПМ – 12	Автоматична пакувальна лінія	<p>Модель: AS100. Метод закриття пачки: гортання.</p> <p>Максимальна швидкість: 100 пачок в хвилину.</p> <p>Електропідключення: 220 В, 50 Гц.</p> <p>Потужність: 1 кВт. Витрата повітря: 2 л/цикл. Виробник: фірма PROMATIC (Італія).</p>	1

РОЗДІЛ 11. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ГОТОВОГО ПРЕПАРАТУ

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

ДР 1.1. Підготовка персоналу до виробництва

ДР 1.1.1. Навчання та інструктаж персоналу.

Особи, що допускаються до виробництва повинні мати відповідну професійну підготовку і пройти інструктаж з безпеки праці та ознайомитись з інструкцією по техніці безпеки на виконувану роботу, а також інструктаж по санітарному мінімуму. Дані заходи з працівником проводяться у відділі охорони праці або спеціально призначеною особою на підприємстві. Персонал, що не пройшов інструктаж, не допускають до роботи.

ДР 1.1.2. Санітарна підготовка персоналу

Для дезінфекційної обробки рук наливають на долоню 3 мл розчину дезінфікуючого засобу, ретельно розтирають і дають висохнути. В якості розчину дезінфікуючого засобу використовують дезінфікуючий засіб «Асепти-спеціаль».

ДР 1.2. Підготовка робочого одягу

ДР 1.2.1 Перегляд та сортування технологічного одягу.

На цю стадію поступає забруднений робочий одяг персоналу. Тут одяг переглядають та сортують різні частини комплектів одягу.

ДР 1.2.2 Прання технологічного одягу

Прання проводять в пральній машині протягом 30 хв з моменту ввімкнення машини. На кожний кг одягу припадає не менше 10 л розчину миючого засобу. Для прання використовують синтетичні миючі засоби, що виявляють низькі піноутворюючі властивості. Концентрація миючого розчину 2 г/л, температура 40-55 °С.

					НУХТ БТЕК 02.02.13 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	Літ.	Арк.	Акрушів
Розроб.		<i>Стариченко К.М.</i>						
Перевір.		<i>Пенчук Ю.М.</i>					<i>131</i>	<i>14</i>
Реценз.						Кафедра БТМ 136		
Н. Контр.								
Затверд.		<i>Стабніков В.П.</i>						

Після закінчення прання одяг декілька разів полощуть протягом 20-30 хвилин у воді очищеній.

Відпрацьована вода подається на знешкодження.

ДР 1.2.3 Сушіння технологічного одягу

Одяг розвішують на вішалки по комплектах та залишають в спеціальній шафі, до якої через фільтр тонкої очистки надходить тепле очищене повітря.

Сушіння проводять протягом 40-60 хв при температурі 100°C. Відпрацьоване повітря подається на очищення.

ДР 1.2.4 Прасування технологічного одягу

Кожний комплект одягу прасують з лицевого боку, використовуючи праску чи прасувальний прес. Температура для прасування має бути максимально допустимою для кожного типу тканини. У даному випадку 130°C.

ДР 1.2.5 Упакування технологічного одягу.

На цю стадію подаються поліетиленові пакети, в які упаковують чистий технологічний одяг.

ДР 1.2.6 Зберігання технологічного одягу.

Після упаковки чистого одягу у поліетиленові пакети їх зберігають на складі не більше 21 днів.

ДР 1.3 Приготування дезінфікуючих та миючих засобів

ДР 1.3.1 Миючий засіб «Део-Хлор №300»

«Део-Хлор №300» (Росія) дезінфікуючий засіб такого складу: натрієва сіль дихлорізоціанурової кислоти 44,2%, активний хлор – 55,8%. Він активний щодо: *Mycobacterium terrae*, *Mycobacterium tuberculosis*, грамнегативні та грампозитивні бактерії, гриби - дерматофітон, кандіда, плісняв, тощо. Призначений для обробки приміщень.

Робочі розчини готують в скляній, пластмасовій або емальованому посуді, шляхом розчинення певної кількості засобу у воді відповідно встановлених режимів. Для дезінфекції застосовують засіб у концентрації 0,015% та 0,3% по активному хлору.

ДР 1.3.2 Дезінфікуючий засіб «Стериокс»

"Стериокс" дезінфікуючий засіб активно діючою речовиною є надощтова кислота (12,0-15,0%). Призначений для дезінфекції корозійно-стійкого устаткування, тари, поверхонь і матеріалів у харчовій, переробній, фармацевтичній, мікробіологічній, парфумерно-косметичної промисловості, ветеринарії, сільському господарстві та інших галузях.

Рекомендована робоча концентрація засобу 0,1%, температура 50° С.

ДР 1.3.4 Розчин «Дескоцид»

Приготування робочих розчинів засобу «Дескоцид» проводять в приміщенні, обладнаному припливно-витяжною механічною вентиляцією, при цьому використовують ємності з різних матеріалів (нержавіюча сталь, поліетилен, скло тощо), які повинні закриватися кришками. Для приготування робочих розчинів, а також ополіскування, необхідно використовувати водопровідну воду. Робочий розчин дезінфікуючого засобу «Дескоцид» 5% готують, 500 мл засобу розчиняють у 9500 мл водопровідної води. Робочі розчини препарату готують безпосередньо перед застосуванням і зберігають у щільно закритих ємностях не більше 3-х діб.

Для приміщення готують 1% розчин: 100мл «Дескоциду» розчиняють у 9900 мл водопровідної води. Норма витрати засобу при обробці становить 100 мл на м² поверхні.

ДР 1.4 Підготовка виробничого приміщення

Прибирання і дезінфекцію виробничих приміщень проводять в спеціально призначених для цього гумових рукавичках, гумових чоботах і гумовому фартусі, при необхідності – в респіраторі.

Стіни і стеля виробничих приміщень вкриті матеріалами з достатньою механічною стійкістю, не піддаються корозії, не токсичні, мають обмежену статичну електризацію, чистяться і миються миючими засобами з дезінфікуючими розчинами. Підлога водонепроникна з гладкою поверхнею (без вибоїн та щілин), зручна для миття.

Вологе прибирання з дезінфекцією приміщень поділяють на щоденну та генеральну.

ДР 1.4.1. Щозмінне прибирання

Щозмінне прибирання приміщень проводять після кожної зміни вологим способом: із приміщень видаляють готову продукцію, напівпродукти, відходи виробництва, невикористані матеріали. Прибирання розпочинають із приміщення, де необхідні асептичні умови, а потім сусідні з ним передбокси. Вологе прибирання приміщень проводять розчином 0,015% «Део-Хлор №300» або 1% «Дескоцид». Прибирання цими розчинами проводять по чергово.

Стіни, двері, вікна приміщень оброблюють дезрозчинами з розрахунку 100-150 мг/м². Цим же розчином миють підлогу. Особливо дуже ретельно протирають дезрозчином ручки і нижні частини дверей. Обробку ведуть в гумових рукавичках, чоботах, фартусі.

Зовнішні двері промивають по мірі необхідності, але не рідше 1 раз/тиждень.

Вологе прибирання приміщень із дезінфекцією проводять за 1,5-2 год до початку роботи або за 30 хв до закінчення роботи.

ДР 1.4.2. Генеральне прибирання

Генеральне прибирання приміщень проводять 1 раз на 5-10 днів (в день профілактики обладнання) або негайно на вимогу бактеріолога у випадку виявлення мікробної контамінації. Для обробки використовують 5% розчин «Дескоцид» або 0,3% розчином «Део-Хлор №300» (ці розчини також чергуються).

Проточна вентиляція під час обробки приміщень працює безперервно.

Перед обробкою обезточують все обладнання та електроприлади.

Стелю, стіни, двері, вікна, перегородки та обладнання оброблюють шляхом обприскування із гідропульта із розрахунку 150-200 мл/м² площі.

Після закінчення обприскування приміщення закривають на 30-40 хв, після чого залишки дезрозчину видаляють шляхом протирання чистою безворсовою серветкою.

ДР 1.5 Підготовка технологічного обладнання

ДР 1.5.1 Миття обладнання

Миття ферментеру проводять 0,1% розчином "Стериокс".

ДР1.5.2 Обполіскування обладнання

Обполіскують водопровідною водою, рідкі відходи направляють до знешкодження рідких відходів.

Після миття ферментер оглядають на наявність залишків бруду, пошкоджень та щілин.

ДР 1.5.3 Перевірка на герметичність

Герметичність затворів гвинтів перевіряють парою. Апарат з прилеглими трубопроводами перед загрузкою середовища перевіряють на герметичність під дією повітряного тиску (0,01–0,02) МПа. Знайдені пропуски усувають і проводять повторну перевірку.

ДР 1.5.4 Стерилізація

Стерилізацію обладнання проводять гострою парою з тиском 0,2 МПа при температурі 125-130°C протягом 1 год. Після стерилізації обладнання утворений конденсат збирається і відводиться.

ДР 1.6. Підготовка вентиляційног повітря

ДР 1.6.1. Забір атмосферного повітря

Забір атмосферного повітря відбувається за допомогою повітрязабірної труби на висоті 30 метрів та під надлишковим тиском 0,01-0,03.

ДР 1.6.2. Очищення повітря у фільтрі грубого очищення

Фільтр грубого очищення є фільтрами першого ступеня очищення повітря. Під час попередньої очистки частково вилучається пил, краплі вологи і деяка частина мікроорганізмів. Коефіцієнт проскоку твердої фази примірно 5-10 мкм не більше $K_p=10\%$. Повітря нагнітається вентилятором приточно-витяжної установки і подає повітря на електрокалорифер, де відбувається нагрівання повітря. Тоді повітря надходить на установку в режимі охолодження - теплообмінник в приточном каналі є випарником і охолоджує припливне повітря, а теплообмінник-конденсатор охолоджується. У свою чергу, при роботі в режимі нагріву припливний зовнішнє повітря нагрівається від теплообмінника, який в даному режимі роботи виконує функцію конденсатора. Тоді повітря надходить на парозволожувач.

ДР 1.6.3. Очищення повітря у фільтрі тонкого очищення

З парозволожувача повітря надходить на фільтр тонкої очистки. Повітряний потік проходить через фільтр тонкого очищення повітря з великою активно фільтруючою поверхнею. Цим елементом уловлюються частинки розміром до 0,1 мікрона. Фільтри тонкого очищення застосовуються в якості фільтрів другого ступеня очищення (доочищення). Фільтр тонкого очищення використовують для видалення 99,97 % всіх часток розміром від 0,1 - 0,3 мікрона (швидкість фільтрації – 15 – 35 м/с) . Оскільки фільтр дуже щільний, для того, щоб пропустити повітряні потоки, система повинна мати велику площу поверхні.

ДР 1.6.4. Очищення повітря у фільтрах типу HEPA

Фільтри HEPA є основним фільтруючим елементом. Принцип роботи HEPA фільтри досить простий: повітря вентилятором проходить через фільтр і тим самим звільняється від частинок пилу. HEPA-фільтри утворені системою волокон складної форми. Зазвичай використовуються склопластикові волокна з діаметром від 0,5 до 2 мкм. Основні фактори, що впливають на роботу - діаметр волокна і товщина фільтра. Повітряний простір між волокнами HEPA фільтра значно більше 0,3 мкм. Відповідно для встановлення фільтра типу HEPA у класі чистоти Д встановлюють фільтри HEPA 11, а для класу С – HEPA 12. HEPA фільтри відфільтровують 95% часток розміром 0,3 мікрона , то це фільтр класу HEPA 11, якщо він відфільтровує їх на 99,95%, то це фільтр класу HEPA 13.

Далі повітря після фільтра тонкого очищення розділяється. Одна частина надходить на стадію продувки туб, а інша частина на наступну стадію очищення у фільтрах типу HEPA 14.

ДР 1.6.5. Очищення повітря у фільтрах типу HEPA

Повітряний простір між волокнами HEPA фільтра значно більше 0,1 мкм. Відповідно для встановлення фільтра типу HEPA у класі чистоти В встановлюють фільтри HEPA [H14], для отримання стерильного повітря без м/о, а для класу А – два HEPA фільтра для ще стерильнішого надходження повітря. HEPA фільтри відфільтровують 99,995 % часток розміром 0,005 мікрона , то це фільтр класу HEPA 14.

ДР. 3 Підготовка води очищеної

ДР 3.1 Очищення від механічних часток

Для отримання очищеної води використовують воду водопровідну. Насосом вода подається на фільтруючий матеріал, який являє собою синтезований полімер з просторово глобулярної структурою з діаметром пор 100 мкм, 50 мкм та 25 мкм. Які взмозі очистити воду від механічних включень.

Далі вода надходить на фільтр, заповнений гранульованим активованим вугіллям спроможним видалити органічні речовини. Крім того, на вугільному фільтрі видаляється хлор та частинки суспензованого заліза. Після вугільного фільтра встановлюється додатковий механічний фільтр для видалення гранул вугілля.

ДР 3.2 Пом'якшення води

Після очищення води від механічних часток та органічних речовин вона надходить на пом'якшення. Пом'якшення води здійснюється на іонообмінних установках. На цій установці відбувається процес видалення з неї катіонів двохвалентних лужноземельних металів калію та магнію замінюючи на іони натрію. Дана стадія проходить на колонах з нержавіючої сталі (висота даної колони 1-2 м, що заповнена селективними смолами аніонідами та катіонідами).

ДР 3.3 Зворотній осмос

Пом'якшена вода за допомогою насоса надходить на пористу зворотно осмотичну мембрану, що селективно пропускає молекули води та повітря при цьому затримуючи домішки. Так, в зворотньо-осмотичній системі затримуються молекули хлору, органічні та неорганічні домішки, важкі метали, мікроорганізми (віруси). Процес фільтрації проходить під високим тиском до 10 атм.

Головним елементом установки зворонього осмосу є напівпроникна осмотична мембрана. Діаметр пор осмотичних мембран – 0,1-0,3 нм. Зворотньо-осмотична система обладнана двома відводами. Через перший у каналізацію зливають воду з концентрованими домішками, а через другий вода очищена надходить у збірник тимчасового зберігання. Потім вода надходить до кільця циркуляції очищеної води.

ДР 3.4 Зберігання води очищеної

Збірник та трубопровід мають підтримувати постійну температуру очищеної води не вище 18°C, протягом 3-х днів.

ТП4. Приготування основи мазі

ТП 4.1 Зважування та приготування вазеліну

Вазеліну, який не містить відновлюючих речовин, зважують на електронних терезах (КП-1) та розплавляють в плавильному котлі (ГФ-4) при 60- 70°C.

ТП 4.1.1 Зневоднення вазеліну

Вазелін подають в реактор (З-6). Зневоднення проводять таким чином: перемішують протягом 30 хв при 70-80°C, потім вимикають мішалку реактора і відстоюють протягом 30 хв при 60-70°C. Відстоюну воду зливають у каналізацію до появи першої порції вазеліну.

ТП 4.2 Зважування ланоліну

Ланоліну зважують на електронних терезах (КП-2) та подають у герметичний реактор (З-8)

ТП 4.3 Змішування компонентів основи

У герметичний реактор (З-8) до ланоліну подають розплавлений зневоднений вазелін. Нагрівають до 90°C, перемішують протягом 30 хв.

ТП 4.4 Стерилізація основи

Стерилізацію мазевої основи проводять в герметичному реакторі (З-8) при температурі $120\pm 2^\circ\text{C}$ 40-60 хв.

ТП 4.5 Охолодження основи

Простерилізовану мазеву основу через фільтр (Ф-7), обтягнутий двома шарами капронової сітки подають в герметичний змішувач "NORMIT" (З-9) із перемішуючим пристроєм і з паровою сорочкою. Основу охолоджують через сорочку змішувача (З-9) при перемішуванні до 28 - 32°C.

ТП 5 Приготування концентрату мазі

ТП 5.1 Подрібнення муропіцину

Попередньо розпакований вручну муропіцин розмелюють на молотковому млині УИМ-2 (ММ–5) до розміру часток не більше 60 мкм.

ТП 5.2 Зваження муропіцину

Муропіцин зважують на електронних терезах (КП–3)

ТП 5.3 Змішування компонентів

До спеціального герметичного змішувача (ГФ–10) перевантажують із змішувача "NORMIT" (З–9) близько 107,08 кг основи (у співвідношенні до муропіцину 3:1) температури 28-32°C, завантажують 35,693 кг муропіцину і перемішують 30 хв.

ТП 5.4 Гомогенізація муропіцинової мазі

Перетирання і перемішування маси проводять протягом 60 хв при періодичному включенні і виключенні шестерневого насоса і роторно-пульсаційного апарата щоб уникнути нагріву маси вище температури 32°C.

Подальше перемішування та охолодження ведуть при працюючій мішалці з скребком протягом 1 год. З герметичного змішувача контролер ОТК відбирає пробу для проведення аналізу на визначення активності муропіцину і рН мазі.

ПМВ 6. Фасування і дозування мазі

Підготовку обладнання проводять у відповідності з технологічною інструкцією для машиністів розфасувально-упакувальних машин (РУМ) по підготовці до роботи тубонаповнювального автомату.

ПМВ 6.1. Перегляд туб

Перед розфасовкою мазі проводять перегляд туб, перевіряють вірність упаковки і маркування туб. При цьому відбраковують туби:

- які не мають лакового покриття на внутрішній поверхні туби;
- які не мають тексту маркіровки або з неякісним нанесенням тексту маркіровки у відповідності з ФС 42У-1/37-186-97, ГОСТУ 64-7-2000.

- які мають наскрізні отвори;
- які мають відхилення по геометричному розмірі;
- сильно деформовані;

Туби повинні витримувати випробування по мікробіологічній чистоті.

Слабо деформовані туби виправляють вручну, неякісні бушони заміняють. Якісні туби вкладають у касети і передають на наступну стадію. Касети з тубами маркують етикеткою з написом «готово до роботи».

ПМВ 6.2. Продувка туб

Перед наповненням туби обов'язково продувають гарячим повітрям з температурою 90°C для видалення пилу та інших чужорідних часточок із туби.

ПМВ 6.3. Розфасовка мазі у туби

Мазь із ємкості завантажують у бункер тубонаповнюючого автомата (ПМ-11) за допомогою стисненого повітря. По мірі опорожнення бункера у нього із ємкості подають мазь так, щоб рівень мазі у бункері не опустився нижче заданого.

Касету з тубами поміщають у бункер для туб автомата і, прибравши нижню стінку касети, заповняють тубами бункер.

Включають автомат по схемі. При цьому пусті туби автоматично вводяться у гнізда поворотного столу, з допомогою погруженого сопла заповнюються маззю і зафальцьовуються. На фальц наноситься контрольний штамп з позначенням серії.

Налаштовують дозування на $(3 \pm 0,2)$ г для кожної туби. Контроль маси, яка дозується у туби проводиться на вагах.

Мазь розфасовують у туби по 3г на тубонаповнювальному автоматі з виробничою потужністю 100 туб/хв.

ПМВ 6.4. Маркування туб

На даній стадії виробництва на тубі українською і російською мовами вказують: назву препарату, загальноприйняту назву препарату на англійській мові, лікарську форму, назву діючої речовини і її склад в 1 г мазі, масу препарату в грамах, умови зберігання, номер реєстрації, номер серії, термін придатності.

На тубі на українській мові вказують: назву підприємства – виробника, його товарний знак.

Номер серії і термін придатності препарату допускається наносити на «хвостовій» частині туби методом тиснення.

ПМВ 6.5. Упакування туб в пачки

Мазь, розфасовану у туби по 3 г упаковують разом з інструкцією по застосуванню у пачки, на автоматі для упаковки туб у пачки (ПМ-12), візуально контролюючи правильність маркування пачки і відповідність інструкції по даному препарату.

З переміщенням туб до вузла вкладання інструкції і туби в пачку відбувається забір конвалюти із каналу завантаження за допомогою вакуумних присосів і формування з неї пачки, а також забір листа інструкції із каналу загрузки установки, складання листа інструкції даною установкою з наступною подачею його до вузла вкладання інструкції і туби в пачку. При наявності сформованої печатки, зложеної інструкції, а також туби вузла вкладання інструкції і туби у пачку виконує свої функції. Далі заповнена пачка потрапляє у багатопозиційну станцію закриття пачки, де відбувається послідовне закриття пелюстків пачки, з одночасним нанесенням номеру серії, терміну придатності друкувальним механізмом машини.

ПМВ 6.6. Маркування упаковок

Номер серії і термін придатності наносять на боковій стороні пачки методом тиснення.

Маркування додатково має містити такі відомості:

- назву і кількісний вміст усіх антимікробних консервантів;
- назву усіх допоміжних речовин;
- «для місцевого застосування»;
- для необхідності термін зберігання після першого розкриття.

ПМВ 6.7. Пакування у транспортну тару

Пачки з тубами, які містять по 3 г препарату, упаковують у коробки по 100 пачок на упаковальному автоматі (ПМ-12), контролюючи правильність упаковки і маркування.

Закрита пачка автоматично попадає на транспортер подачі пачок машини для вкладання пачок у коробки. Поступово заповнюючи транспортер,

горизонтальний стовп пачок діє на кінцевий мікровимикач, який дає команду на вертикальний пневмоциліндр, планка штоку якого піднімає сформований ряд пачок вверх на лінії досилання. Потім відбувається наступний набір пачок з наступним підйомом вверх до тих пір, поки плівка, яка підтримує верхній ряд, не діє на мікровимикач, який дає команду на горизонтально розміщений пневмоциліндр, пластинка штоку якого і досилає дану партію пачок в коробку, яка знаходиться на лінії загрузки. Після заповнення коробки механізм підйому і опускання автоматично опускає коробку на стіл роликового транспортеру, по якому він переміщується на площадку ручного заклеювання.

Транспортне маркування відповідно ГОСТ 14192-96.

ПМВ 6.8. Відвантаження на карантин

Після маркування туб, упаковки туб у пачки та маркування пачок готову продукцію відвантажують на склад для подальшого зберігання та реалізації.

Мазь, незалежно від виду упаковки повинна зберігатися в прохолодному, захищеному від світла місці при температурі не вище 25⁰С.

ЗВ 7. Знешкодження відходів

ЗВ 7.1. Знешкодження твердих відходів

Туби з неякісною зафальцьовкою, нечітким штампом, деформовані або з відхиленням маси вмісту відбраковують. Деформовані туби з залишками препарату здають в організацію «Вторсировина».

ЗВ 7.2. Знешкодження рідких відходів

Промислові стічні води до скиду у каналізацію повинні піддаватися нейтралізації, очищатися від масел, смол та інших шкідливих сполук на очисних спорудах.

ЗВ 7.3. Знешкодження газоподібних відходів

Знешкодження технологічних викидів здійснюють шляхом фільтрації повітря від технологічних приміщень перед викидом у атмосферу.

**РОЗДІЛ 12. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ГОТОВОГО
ПРЕПАРАТУ**

Номер контролю і точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
Кт, Км, Кх 9	Час, швидкість обертів	Годинник, тахометр, рН розчину, концентрація розчину.	Під час центрифугування	$\tau = 5-30$ хв; N= 3000-5000 об/хв., рН=4,5, С р-ну (НСІ) 10%
Кт, Км 10	Час, швидкість обертів, концентрація розчину.	Годинник, тахометр, хімічний спосіб, ФЕК	Під час процесу екстрагування мупіроцину з гелю.	текст = 4 год; N= 50 об/хв Ср-ну метидіобутилкетон = 96%
Кт, Км 11.1	Час, температура	Годинник, технічний термометр.	Процес випарювання	$\tau = 1$ год; 70 °С
Км, Кт 11.3	Температура входу та виходу розчину	Технічний термометр	Під час процесу кристалізації	твхід. = 50-60 °С; твихід. = 20-30 °С
Км, Кт 12	Час, температура	Годинник, технічний термометр	Під час процесу сушіння	t=40 °С, $\tau = 30$ хв

					НУХТ БТЕК 02.02.13 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		<i>Стариченко К.М.</i>			КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ГОТОВОГО ПРЕПАРАТУ	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		<i>Пенчук Ю.М.</i>					143	8
Реценз.						Кафедра БТМ ₄₈		
Н. Контр.								
Затверд.		<i>Стабніков В.П.</i>						

Методи контролю

1.Опис. Мазь білого кольору із слабким специфічним запахом.

2.Ідентифікація.

А. На хроматографах досліджуваного зразку, отриманих при якісному визначенні Мупіроцин у мають бути присутні вершини, час утримання яких, має співпадати з часом утримання вершин Мупіроцин у на хроматографах розчину порівняння з точністю $\pm 2\%$.

В. 1,0 г зразку поміщають в хімічний стакан місткістю 50 мл, добавляють 10 мл води Р і розчиняють, підігрівуючи на теплій водяній бані.

В мірний циліндр з притертою кришкою поміщають 5 мл розчину натрій гідроксиду Р, 1 мл розчину бромтимолового синього в розчині натрій гідроксиду Р1, 5 мл хлороформу Р (або НФП “Альварус” кваліфікації “х.ч.” або аналогічної якості) і взбовтують на протязі 1 хвилини. Суміші дають розслоїтися на протязі 3 хвилин; хлороформний слой – безбарвний, водяний слой – синього кольору. Потім добавляють 5 мл розчину препарату, взбовтують на протязі 3 хвилин і суміші дають розчинитися на протязі 5 хвилин; хлороформний слой закрашується в голубий колір.

3. Потенціометричне визначення рН.

рН - число , яке умовно характеризує концентрацію іонів водню у водних розчинах. На практиці рН визначають експериментально. Потенціометричне визначення рН проводять шляхом вимірювання різниці потенціалів між двома відповідними електродами, зануреними у випробовуваний препарат : один з електродів чутливий до іонів водню (звичайно скляний електрод), другий - електрод порівняння (наприклад, насичений каломельний електрод).

Усі виміри проводять при тій самій температурі в інтервалі від 20 С до 25 С, якщо немає інших зазначень в окремій статті. Якщо необхідно враховують температурні поправки відповідно до інструкції підприємства - виробника. Прилад калібрують за допомогою буферного розчину калію гідрофталату (первинний стандарт) і одного з буферних розчинів з іншим значенням рН. Показання приладу для третього буферного розчину з проміжним значенням рН не мають відрізнятись більш як на $0,05$ одиниць рН від табличного значення рН

цього розчину. Електроди занурюють у випробовуваний розчин і вимірюють рН у тих самих умовах, що і для буферних розчинів. Якщо прилад використовують часто, його калібрування проводять регулярно. У протилежному разі калібрування приладу має проводитись перед кожним виміром. Усі, випробувані розчини і стандартні буферні розчини мають бути приготовлені на воді, вільній від діоксиду вуглецю. (ДФУ 2.2.3.). 2,0 г препарату перемішують на протязі 5 хвилин з 50 мл свіжопрокип'яченої гарячої води, охолоджують і вимірюють рН.

4. Однорідність.

Беруть чотири проби по 20-30 мг кожна, поміщають по дві проби на предметне скло, накривають другим предметним склом і сильно притискають до появи п'ятен діаметром приблизно 2 см. При огляді отриманих проб неозброєним оком (на відстані приблизно 30 см від очей) у всіх чотирьох пробах не повинні бути видимі частинки, побудова включення і признаки фізичної нестабільності: агрегація і коалесценція частин, коагуляція.

Якщо одна із проб не витримує випробовування, визначення проводять додатково ще на восьми пробах. При цьому вісім додаткових проб мають витримати випробовування.

5. Розмір часток.

Мупіроцин (від 10 мг до 100 мг) суспендують у 10 мл підхожої рідини, у якій він не розчиняється, додаючи, якщо необхідно, речовину, що покращує його змочуваність. Порцію гомогенної суспензії поміщають у підхожу лічильну чашку і переглядають під мікроскопом площу, відповідну не менше 10 мкг випробовуваного порошку. Підраховують усі частки, які мають розміри, що виходять за межі зазначеного інтервалу.

6. Кислотне число.

Кислотним числом I_A називають кількість калію гідроксиду, у міліграмах, необхідну для нейтралізації вільних кислот, що містяться в 1 г випробовуваної речовини.

Близько 10,00 г Мупіроцин у розчиняють у 50 мл суміші рівних об'ємів спирту Р і ефіру Р, попередньо нейтралізованої 0,1 М розчином калію гідроксиду, якщо немає інших зазначень в окремій статті, використовуючи як

індикатор 0,5 мл розчину фенолфталеїну Р1. Після розчинення випробовуваної речовини одержаний розчин титрують 0,1 М розчином калію гідроксиду до появи рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 15с.

Кислотне число (I_A) визначають за формулою:

$$I_A = \frac{5.610n}{m}$$

де:

n – кількість 0,1 розчину калію гідроксиду, витрачена на титрування, у мілілітрах;

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

m – маса наважки речовини, у грамах.

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

Кислотне число буде 1.122.

7. Перекисне число.

Перекисним числом I_p називають кількість міліеквівалентів активного кисню, відповідну кількість перекисів, що містяться у 1000г випробовуваної речовини.

Близько 5,00 г (точна наважка) речовини поміщають у конічну колбу з притертою скляною пробкою місткістю 250 мл, додають 30 мл суміші: хлороформ Р – кислота оцтова льодяна Р (2:3). Колбу струшують до розчинення речовини, додають 5 мл насиченого розчину калію йодиду Р, перемішують протягом 1 хв і додають 30 мл води. Одержаний розчин титрують 0,01 М розчину натрію тіосульфату, повільно додаючи титр ант при безперервному перемішуванні майже до повного зникнення жовтого

забарвлення. Потім додають 5 мл розчину крохмалю і продовжують титрувати, інтенсивно перемішуючи до знебарвлення розчину.

Паралельно проводять контрольний дослід.

Об'єм 0,01 М розчину натрію тіосульфату, витрачений на титрування в контрольному досліді, не має перевищувати 0,1 мл.

Перекисне число обчислюють за формулою:

$$I_p = \frac{10(n_1 - n_2)}{m},$$

де:

n_1 - об'єм 0,01 М розчину натрію тіосульфату, витрачений на титрування випробуваної речовини, у мілілітрах;

n_2 - об'єм 0,01 М розчину тіосульфату натрію, витрачений на титрування в контрольному досліді, у мілілітрах;

m – маса наважки речовини у грамах.

Перекисне число буде від 0 до 12.

8. Супровідні домішки.

10 мкл випробуваного розчину, який приготували для кількісного визначення Мупіроцину, хроматографують на рідинному хроматографі, в умовах, які описані в розділі „Кількісне визначення”.

На хроматограмі випробуваного розчину сума площ всіх додаткових піків окрім основного та системного, не повинна перевищувати 8% суми площ всіх піків на хроматограмі (не більше 8%).

Результати вважаються вірними, якщо виконуються, вимоги теста „Перевірка придатності хроматографічної системи -1”, який описано в розділі „Кількісне визначення”.

9. Маса вмісту упаковки.

Упаковку з препаратом зважують з точністю до 0,01 г.

10. Герметичність упаковки.

Відбирають 10 упаковок і ретельно витирають їх зовнішні поверхні фільтрувальним папером. Упаковки поміщають у горизонтальному положенні на пластині чорного кольору.

На пластині не має бути слідів мазі.

Результати випробування вважаються задовільними, якщо не спостерігається слідів мазі.

11. Мікробіологічна чистота.

Визначення проводять у відповідності з вимогами ГФУ, 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4, N (Категорія 2).

Посів на поживне середовище №8 (для визначення *Staphylococcus aureus*) не проводять.

1) Підготовка зразків.

10 г препарату поміщають в стерильний мірний флакон, доводять об'єм до 500 мл стерильним фосфатним буферним розчином з натрій хлоридом і пептоном рН 7,0, який містить слідуєчий комплекс інактиваторів: соєвий лецитин – 0,5%, гістидину гідрохлорид – 0,1%, пептон – 0,1%, тіосульфат натрію – 0,5%, полісорбат-80 – 5%, перемішують з використанням скляних бус до отримання емульсії. (Зразок А).

10 г препарату поміщають в стерильний мірний флакон, доводять об'єм до 100 мл стерильним фосфатним буферним розчином з натрій хлоридом і пептоном рН 7,0, перемішують з використанням скляних бус до отримання емульсії. (готовлять в двох послідовностях: зразок Б і В).

2) Проведення аналізу.

Для визначення загального числа бактерій і грибів по 1 мл із зразка А висівають двослойним або глибинним методом на 2 чашки Петрі з середовищем №1 і на 2 чашки Петрі з середовищем №2.

Для дослідження на наявність ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій 10 мл із зразка Б вносять в 100 мл середовища №3.

Для дослідження на наявність *Pseudomonas aeruginosa* 10 мл із зразка В вносять в середовище №8.

В 1 г препарату дозволяється наявність не більше 100 бактерій і грибів (у сумі).

Не допускається наявність в 1 г препарату ентеробактерій і деяких інших грам позитивних бактерій.

Не допускається наявність в 1 г препарату *Pseudomonas aeruginosa*

12. Кількісне визначення.

0,5 г препарату поміщають в мірну колбу місткістю 25 мл, додають 15 мл спирту метилового, перемішують до розчинення препарату, доводять об'єм розчину спиртом метиловим до мітки та перемішують. Розчини витримують протягом 20 хв до утворення нижнього шару вуглеводів, а верхній шар фільтрують через фторопластовий або скляний фільтр з розміром пор не більше 10 мкм, відкидаючи перші 2 мл фільтрату. По 10 мкм отриманого розчину і розчину Мупіроцину у поперемінно хроматографують на рідкісному хроматографі з УФ спектрофотометричним детектором, отримуючи не менше 5 хроматограм для кожного з розчинів, в наступних умовах:

- колонка розміром 200x4,0 мм, заповнена сорбентом з розміром часток 5 мкм. Рухома фаза - фосфатний буферний розчин рН 3,5 - спирт метиловий (65:35), дегазована будь-яким способом:

- детектування при довжині хвилі 278 нм
- швидкість рухомої фази-1 мл/хв
- температура колонки - 35С°

Вміст Мупіроцину (X1) в 1 г препарату, в грамах, обчислюють за формулою:

$$X1 = S1 \cdot m_0 \cdot 1 \cdot 25 / S_0 \cdot m_1 \cdot 10 \cdot 25 = S1 \cdot m_0 / S_0 \cdot m_1 \cdot 10.$$

Де S1 - середнє значення площ піків Мупіроцину у, обчислене з хроматограм випробуваного розчину.

- середнє значення площ піків Мупіроцину у, обчислене з хроматограм розчину Мупіроцину у;

m₀ - маса наважки препарату, в грамах.

m₁ - маса наважки Мупіроцину у, в грамах.

Вміст Мупіроцину у в 1 г препарату повинен бути від 0,225 до 0,275 г. 1 г препарату поміщають в мірну колбу місткістю 5 мл, додають 1,0 мл розчину 1,4-

бутандіола, доводять об'єм до мірки розчину спиртом ізопропіловим до мірки та перемішують. Отриманий розчин фільтрують крізь паперовий фільтр „синя стрічка”, відкидаючи перші 2 мл фільтрату.

По 1 мкл отриманого розчину та розчину пропіленгліколя поперервно хроматографують на газовому хроматографі, отримуючи не менше 5 хроматограм кожного розчину при наступних умовах: колонка капілярна кварцова, розміром 30x 0,53 мм з не рухомою фазою — FFAP (Поліетиленоксид 20 М), товщина шару 1 мкм, температуру програмують — 120 С° (3 хв), приріст температури зі швидкістю 8С/хв, до температури 195 С°, температуру випаровування — 220 С°. Температура детектора — 230 С°, розподіл потоку: 1 (1 хв) потім без поділу, швидкість газоносія (гелей) — 5м

Вміст пропіленгліколя (X2), в 1 г препарату, в грамах, обчислюють за формулою: $X_2 = V_{(1)} \cdot m_{(0)} \cdot 5 / V_{(0)} \cdot m_{(1)} \cdot 10 \cdot 5 = V_{(1)} \cdot m_{(0)} / V_{(0)} \cdot m_{(1)} \cdot 10$

Де $V_{(1)}$ - середнє значення відношень площ піків пропіленгліколя до площ піків внутрішнього стандарту, випробовуваного розчину.

$V_{(0)}$ - середнє значення відношень площ піків пропіленгліколя до площ піків внутрішнього стандарту, яке вираховане з хроматограм розчину пропіленгліколя

$m_{(0)}$ маса наважки препарату, в грамах

$m_{(1)}$ - маса наважки РСО пропіленгліколя, в грамах

Вміст пропіленгліколя в 1 г препарату повинен бути від 0,163 г до 0,181г. Результати аналізу рахують вірними, якщо виконуються вимоги тесту „Перевірка придатності хроматографічної системи — 2”.

13. Термін придатності.

Термін придатності 2 роки.

14.Упаковка.

По 20 г в поліетиленові пакети з внутрішнім покриттям алюмінієм ТУУ 254630 20 - 01 - 98. Кожний пакет разом з супровідною документацією поміщають в пачку з картону для споживальної тари по ГОСТ 13 — 0281020 - 97 - 90. Групова і транспортна тара у відповідності з ГОСТ 17768-90.

15. Маркування.

На тубі латинською, українською або російською мовами вказується фірма, її товарний знак, назва, маса в грамах, назва діючих речовин, умови зберігання, реєстраційний номер, номер серії, термін придатності.

На пачці етикетці групової тари на українській мові додатково вказують: "Україна", адреса, "Антимікробний (бактерицидний) засіб". Зберігати в недоступному для дітей місці, штриховий код на етикетці групової тари вказують кількість упаковок. Транспортне маркування у відповідності з ГОСТ 14192 - 96 .

16. Транспортування.

Згідно ГОСТ 17768-90.

17. Зберігання.

В захищеному від світла місці при температурі від +18 до +25°C.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Пирог Т.П. Мікробні поверхнево-активні речовини: проблеми промислового виробництва / Т.П. Пирог, С.В. Ігнатенко // Біотехнологія. – 2008. – Т. 1, № 4. – С. 29-38.
2. Noah, K. S., Fox, S. L., Bruhn, D. F., Thompson, D. N., & Bala, G. A. (2002). Development of Continuous Surfactin Production from Potato Process Effluent by *Bacillus subtilis* in an Airlift Reactor. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 98-100(1-9), 803–814. doi:10.1385/abab:98-100:1-9:803
3. Rodrigues L., Banat I. M., Teixeira J., Oliveira R. Biosurfactants: potential applications in medicine // *J. Antimicrob. Chemother.* — 2006. — V. 57, N4. — P. 609–618.
4. Пелех І. Р., Білоус С. Б., Перспективизастосуванняповерхнево-активнихречовинмікробногопоходження у складілікарських та косметичнихзасобів // *Фармацевтичний часопис.* - 2016. - № 1. - С. 108-112.
5. Mukherjee, A. K., & Das, K. Microbial Surfactants and Their Potential Applications: An Overview. *Biosurfactants*, — 2010. — P. 54–64. doi:10.1007/978-1-4419-5979-9_4
6. Gouda, S., Kerry, R. G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H.-S., & Patra, J. K. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological Research* 206, — 2018. — P. 131–140.
7. Андреева С.В. Чувствительность к антисептикам биоплёночных форм *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных из ожоговых ран, – 2018. – КМАХ, – Том 20, №3, – с. 250.
8. Soberón-Chávez, G., Lépine, F., & Déziel, E. (2005). Production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 68(6), 718–725. doi:10.1007/s00253-005-0150-3
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16160828/>
9. Fenibo, E. O., Douglas, S. I., & Stanley, H. O. (2019). A Review on Microbial Surfactants: Production, Classifications, Properties and Characterization. *Journal of Advances in Microbiology*, 18(3), 1-22. <https://doi.org/10.9734/jamb/2019/v18i330170>

<https://www.journaljamb.com/index.php/JAMB/article/view/30170>

10. Chong, H., & Li, Q. (2017). Microbial production of rhamnolipids: opportunities, challenges and strategies. *Microbial Cell Factories*, 16(1). doi:10.1186/s12934-017-0753-2

<https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12934-017-0753-2>

11. Matthew Twigg, Lakshmi Tripathi, Katerina Zompra. Surfactants from the sea: rhamnolipid production by marine bacteria Open Access, 2019. <https://doi.org/10.1099/acmi.ac2019.po0066>

<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/acmi/10.1099/acmi.ac2019.po0066>

12. Khademolhosseini, R., Jafari, A., Mousavi, S. M., Hajfarajollah, H., Noghabi, K. A., & Manteghian, M. (2019). Physicochemical characterization and optimization of glycolipid biosurfactant production by a native strain of *Pseudomonas aeruginosa* HAK01 and its performance evaluation for the MEOR process. *RSC Advances*, 9(14), 7932–7947. doi:10.1039/c8ra10087j

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2019/ra/c8ra10087j#!divAbstract>

13. Rashedi H., Jamshidi E., Mazaheri M. Assadi and Bonakdarpour B. Isolation and production of biosurfactant from *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Iranian southern wells oil. – *Int. J. Environ. Sci. Tech.* – 2005, Vol. 2, No. 2, pp. 121-127.

https://www.researchgate.net/publication/26482399_Isolation_and_production_of_biosurfactant_from_Pseudomonas_aeruginosa_isolated_from_Iranian_Southern_wells_oil

14. Santa Anna, L. M., Sebastian, G. V., Menezes, E. P., Alves, T. L. M., Santos, A. S., Pereira Jr., N., & Freire, D. M. G.. Production of biosurfactants from *Pseudomonas aeruginosa* PA 1 isolated in oil environments. *Brazilian Journal of Chemical Engineering.* – 2002, 19(2), 159–166. doi:10.1590/s0104-66322002000200011

https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-66322002000200011&script=sci_arttext#figura2

15. Christova N., Petrov P., Kabaivanova L. Biosurfactant Production by *Pseudomonas aeruginosa* BN10 Cells Entrapped in Cryogels. – Zeitschrift Für Naturforschung C, - 2013, - 68 (1-2), 47–52.[doi:10.1515/znc-2013-1-207](https://www.degruyter.com/view/journals/znc/68/1-2/article-p47.xml?language=en)
<https://www.degruyter.com/view/journals/znc/68/1-2/article-p47.xml?language=en>
16. Gloria Soberón-Chávez. Rhamnolipids produced by *Pseudomonas*: from molecular genetics to the market, - 2020. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13700>
<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1751-7915.13700>
17. Clarita Olvera. The *Pseudomonas aeruginosa* alg C gene product participates in rhamnolipid biosynthesis. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb08712.x>
<https://academic.oup.com/femsle/article/179/1/85/606419>
18. DEVENDRA H. DUSANE. Quorum sensing: implications on Rhamnolipid biosurfactant production. – 2010, - Biotechnology and Genetic Engineering Reviews - Vol. 27, 159-184.
<https://core.ac.uk/download/pdf/322323397.pdf>
19. Ana B. Moldes Synthetic and Bio-Derived Surfactants Versus Microbial Biosurfactants in the Cosmetic Industry: An Overview. – Int. J. Mol. Sci. – 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22052371> <https://www.mdpi.com/journal/ijms>
20. Kalsoom Akhter. Synthesis and characterization of cationic surfactants and their interactions with drug and metal complexes. – Heliyon. – Volume 5, Issue 6 . – June 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01885>
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844019314045>
21. Pokynbroda, T., Karpenko, I., Midyana, H., & Karpenko, O. Isolation of Surfactants Synthesized by the *Pseudomonas* Bacteria and Study of Their Properties. Innovative Biosystems and Bioengineering, 3(2), -2019.- 70–76.
<https://doi.org/10.20535/ibb.2019.3.2.165838><http://ibb.kpi.ua/article/view/165838>
22. Покинсьброда Т. Я., Пирог Т. П., Карпенко О. В., Пристай М. В., Болібрех Л. Д. Синтез поверхнево-активних речовин штамом *Pseudomonas* sp. PS-17 на змішаних субстратах / // Вісник Національного університету "Львівська політехніка". Серія: Хімія, технологія речовин та їх застосування :

збірник наукових праць. – 2016. – № 841. – С. 210–216. <http://science.lpnu.ua/schmt/all-volumes-and-issues/volume-841-2016/sintez-poverhnevo-aktivnih-rechovinshtamom-pseudomonas>

23. Покинсьброда Т. Я., Карпенко О. В., Лубенець В. І., Мартинюк Н. Б., Зінь І. М. Біосинтез ПАР мікроорганізмами родів *Pseudomonas* на соєвій олії та дослідження їх властивостей 2017; №868: с. 222. <http://science.lpnu.ua/schmt/all-volumes-and-issues/volume-868-2017/biosintez-par-mikroorganizmami-roddiv-pseudomonas-na>

24. Пирог Т. П., Софілканич А. П., Конон А. Д., Гриценко Н. А. Біосинтез поверхнево-активних речовин на промислових відходах // *Biotechnologia Acta*. - 2014. - Vol. 7, № 5. - с.9-26 <https://cyberleninka.ru/article/n/biosintez-poverhnostno-aktivnyh-veschestv-na-promyshlennyh-othodah>

25. Ляскун Д. О., Шульга О. М, Мідяна Г. Г., Заярнюк Н. Л., Вільданова Р. І. Метод виділення поверхнево-активного комплексу штаму *Pseudomonas aeruginosa* JRV-L // Вісник Національного університету "Львівська політехніка". Серія: Хімія, технологія речовин та їх застосування : збірник наукових праць. – 2016. – № 841. – С. 181–186. <http://science.lpnu.ua/schmt/all-volumes-and-issues/volume-841-2016/metod-vidilennya-poverhnevo-aktivnogo-kompleksu-shtamu>

26. Щеглова Н. С., Карпенко О. В., Вільданова Р. І., Шульга О. М., Баранов В. І. Вплив мікробних поверхнево-активних речовин на ріст бобових рослин // *Biotechnologia Acta*. - 2015. - Vol. 8, № 1. - с. 76-81. http://irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&S21P03=FILA=&S21STR=biot_2015_8_1_11

27. Карпенко О., Покинсьброда Т., Семенюк І., Мідяна Г., Баня А., Корецька Н., Лисяк В., Тимусь М. Інгібітори корозії і біокорозії металів на основі біогенних ПАР- с. 217-221. <http://www.ipm.lviv.ua/corrosion2020/ua/materials.html>

28. Берегова Х. А., Пирог Т. П. Вплив поверхнево-активних речовин *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 на адгезію бактерій та дріжджів до поверхонь силіконових катетерів // Мікробіологія і біотехнологія. - 2014. - № 3. - с. 57-64
http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&S21P03=FILA=&S21STR=MiB_2014_3_9
29. Хом'як, Д. І. Вплив органічних кислот на синтез поверхнево-активних речовин за умов росту *Nocardia vaccinii* К-8 на гліцерині / Д. І. Хом'як, Н. А. Гриценко, А. Д. Конон, Т. П. Пирог // Мікробіологія і біотехнологія. - 2012. - № 1(17). - с. 31-38.
<http://dspace.nuft.edu.ua/jspui/handle/123456789/6528?locale=ru>
30. Пирог Т. П., Конон А. Д., Софілканич А. П., Скочко А. Б. Дія поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 та *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 на деякі мікроорганізми // Мікробіологічний журнал. - 2011. - Т. 73, № 3. - С. 14-20. http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&S21P03=FILA=&S21STR=MicroBiol_2011_73_3_4
31. Mukherjee, A. K., & Das, K.. Microbial Surfactants and Their Potential Applications: An Overview. | // Biosurfactants 2010, 54-64. doi:10.1007/978-1-4419-5979-9_4 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20545273/>
32. Emmanuel O. Fenibo, Grace N. Ijoma, Ramganesch Selvarajan ,Chioma B. Chikere. Microbial Surfactants: The Next Generation Multifunctional Biomolecules for Applications in the Petroleum Industry and Its Associated Environmental Remediation. // Microorganisms 2019, 7, 581; p.1-29. doi:10.3390/microorganisms7110581
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6920868/>
33. Gautam K. K. & Tyagi V. K. Microbial Surfactants: A Review. Journal of Oleo Science, 2006, 55(4), 155-166. doi:10.5650/jos.55.155 https://www.jstage.jst.go.jp/article/jos/55/4/55_4_155/a

[rticle](#)

34. Kaskatepe, B., & Yildiz, S. Rhamnolipid Biosurfactants Produced by *Pseudomonas* Species. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2016, 59(0). doi:10.1590/1678-4324-2016160786

https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132016000100420

35. El-Sheshtawy, H. S., & Doheim, M. M. Selection of *Pseudomonas aeruginosa* for biosurfactant production and studies of its antimicrobial activity. *Egyptian Journal of Petroleum*, 2014, 23(1), 1–6. doi:10.1016/j.ejpe.2014.02.001 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1110062114000038>

36. Pornsunthorntawe, O., Arttaweeporn, N., Paisanjit, S., Somboonthanate, P., Abe, M., Rujiravanit, R., & Chavadej, S. Isolation and comparison of biosurfactants produced by *Bacillus subtilis* PT2 and *Pseudomonas aeruginosa* SP4 for microbial surfactant-enhanced oil recovery. *Biochemical Engineering Journal*, 2008, 42(2), 172–179. doi:10.1016/j.bej.2008.06.016 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X08002192>

37. Díaz De Rienzo, M. A., Stevenson, P. S., Marchant, R., & Banat, I. M. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm disruption using microbial surfactants. *Journal of Applied Microbiology*, 2016, 120(4), 868–876. doi:10.1111/jam.13049 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26742560/>

38. Fenibo, E. O., Douglas, S. I., & Stanley, H. O. (2019). A Review on Microbial Surfactants: Production, Classifications, Properties and Characterization. *Journal of Advances in Microbiology*, 18(3), 1-22. <https://doi.org/10.9734/jamb/2019/v18i330170>
<https://www.journaljamb.com/index.php/JAMB/article/view/30170>

39. Chong, H., & Li, Q. (2017). Microbial production of rhamnolipids: opportunities, challenges and strategies. *Microbial Cell Factories*, 16(1). doi:10.1186/s12934-017-0753-2 <https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12934-017-0753-2>

40. Matthew Twigg, Lakshmi Tripathi, Katerina Zompra. Surfactants from

the sea: rhamnolipid production by marine bacteria Open Access, 2019.
<https://doi.org/10.1099/acmi.ac2019.po0066>
<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/acmi/10.1099/acmi.ac2019.po0066>

41. Paulo André Vicente Fernandes, Isabel Renata de Arruda. ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SURFACTANTS PRODUCED BY BACILLUS SUBTILIS R14 AGAINST MULTIDRUG-RESISTANT BACTERIA // Brazilian Journal of Microbiology (2007) 38:704-709. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000400022> https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-83822007000400022&script=sci_arttext

42. Khademolhosseini, R., Jafari, A., Mousavi, S. M., Hajfarajollah, H., Noghabi, K. A., & Manteghian, M. (2019). Physicochemical characterization and optimization of glycolipid biosurfactant production by a native strain of *Pseudomonas aeruginosa* HAK01 and its performance evaluation for the MEOR process. RSC Advances, 9(14), 7932–7947. doi:10.1039/c8ra10087j <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2019/ra/c8ra10087j#!divAbstract>

43. Emmanuel O. Fenibo , Grace N. Ijoma, Ramganesch Selvarajan and Chioma B. Chikere. Microbial Surfactants: The Next Generation Multifunctional Biomolecules for Diverse Applications. // Microorganisms 2019, 7, 581; doi:10.3390/microorganisms7110581
<https://www.preprints.org/manuscript/201909.0044/v1>

44. Lotfabad, T., Shahcheraghi, F., & Shooraj, F. Assessment of Antibacterial Capability of Rhamnolipids Produced by Two Indigenous *Pseudomonas aeruginosa* Strains. Jundishapur Journal of Microbiology, 2012, 6(1), 29–35. doi:10.5812/jjm.2662 <https://sites.kowsarpub.com/jjm/articles/56299.html>

45. S. Vijayakumar and V. Saravanan, 2015. Biosurfactants-Types, Sources and Applications. Research Journal of Microbiology, 10: 181-192. <https://scialert.net/abstract/?doi=jm.2015.181.192>

46. Bustamante M., Durán N., Diez M.C. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2012, 12 (4), 667- 687 <http://dx.doi.org/10.4067/S0718->

95162012005000024

https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-95162012000400004

47. Jenyffer Medeiros Campos, Tania Luícia Montenegro Stamford. Microbial Biosurfactants as Additives for Food Industries //Biotechnol. Prog., 2013, Vol. 00, No. 00, P. 1-12. DOI 10.1002/btpr.1796 <http://www.marisurf.eu/wp/wp-content/uploads/2015/11/Biotechnology-Progress-2013-Microbial-biosurfactants-as-additives-for-food-industries.pdf>

48. Marcia Nitschke, Siddhartha G. V., Costa A. O, Renato Haddad, Lireny A. G. Gonc, Marcos N. Eberlin and Jonas Contiero. Oil Wastes as Unconventional Substrates for Rhamnolipid Biosurfactant Production by *Pseudomonas aeruginosa* LBI // Biotechnol. Prog. 2005, Vol. 21, No. 5, 1562–1566. <http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/67561/1/WOS000232461300026.pdf>

49. Eduardo J Gudiña, Lígia R Rodrigues. Microbial Surfactants: Alternative to Vegetable Oil Surfactants //Microbial Lipid Production. Methods in Molecular Biology. doi:10.1007/978-1-4939-9484-7 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31148140/>

50. Cierniak, D., Woźniak-Karczewska, M., Parus, A., Wyrwas, B., Loibner, A. P., Hejpieper, H. J., Chrzanowski, Ł. (2019). How to accurately assess surfactant biodegradation-impact of sorption on the validity of results. Applied Microbiology and Biotechnology. doi:10.1007/s00253-019-10202-9 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31729532/>

51. Henkel, M., Geissler, M., Weggenmann, F., & Hausmann, R. Production of microbial biosurfactants: Status quo of rhamnolipid and surfactin towards large-scale production. Biotechnology Journal, 2017, 12(7), 1600561. doi:10.1002/biot.20160056 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28544628/>

52. Wadekar, S. D., Kale, S. B., Lali, A. M., Bhowmick, D. N., & Pratap, A. P. MICROBIAL SYNTHESIS OF RHAMNOLIPIDS BY *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145) ON WASTE FRYING OIL AS LOW COST CARBON SOURCE. Preparative Biochemistry and Biotechnology, 2012, 42(3), 249–266.

doi:10.1080/10826068.2011.603000 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22509850/>

53. Patrone, V., Campana, R., Vittoria, E., & Baffone, W. (2009). In Vitro Synergistic Activities of Essential Oils and Surfactants in Combination with Cosmetic Preservatives Against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Current Microbiology*, 60(4), 237–241. doi:10.1007/s00284-009-9531-7 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19921329/>

54. Cheng, Z., Wei, Y., Zhang, Q., Zhang, J., Lu, T., & Pei, Y. (2018). Enhancement of surfactant biodegradation with an anaerobic membrane bioreactor by introducing microaeration. *Chemosphere*, 208, 343–351. doi:10.1016/j.chemosphere.2018.06.001 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29883868/>

55. Soberón-Chávez, G., Lépine, F., & Déziel, E. (2005). Production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 68(6), 718–725. doi:10.1007/s00253-005-0150-3 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16160828/>

56. Rashedi H., Jamshidi E., Mazaheri M. Assadi and Bonakdarpour B. Isolation and production of biosurfactant from *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Iranian southern wells oil. – *Int. J. Environ. Sci. Tech.* – 2005, Vol. 2, No. 2, pp. 121-127. https://www.researchgate.net/publication/26482399_Isolation_and_production_of_biosurfactant_from_Pseudomonas_aeruginosa_isolated_from_Iranian_Southern_wells_oil

57. Santa Anna, L. M., Sebastian, G. V., Menezes, E. P., Alves, T. L. M., Santos, A. S., Pereira Jr., N., & Freire, D. M. G.. Production of biosurfactants from *Pseudomonas aeruginosa* PA 1 isolated in oil environments. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. – 2002, 19(2), 159–166. doi:10.1590/s0104-66322002000200011 https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-66322002000200011&script=sci_arttext#figura2

58. Christova N., Petrov P., Kabaivanova L. Biosurfactant Production by *Pseudomonas aeruginosa* BN10 Cells Entrapped in Cryogels. – *Zeitschrift Für Naturforschung C*, - 2013, - 68 (1-2), 47–52. doi:10.1515/znc-2013-1-207 <https://www.degruyter.com/view/journals/znc/68/1-2/article-p47.xml?language=en>

59. Sandra Matthijsa Corinne Vander Wauvena Bertr and Cornua Lumeng Antimicrobial properties of *Pseudomonas* strains producing the antibiotic mupirocin Research in Microbiology. Volume 165, Issue 8, October 2014, Pages 695-704. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2014.09.009>

60. Ramsey, M. A., Bradley, S. F., Kauffman, C. A. and Morton, T. M. (1996) 'Identification of Chromosomal Location of mupA Gene, Encoding Low-Level Mupirocin Resistance in Staphylococcal Isolates.' Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 40, (12): 2820-2823.

61. Sandra Matthijsab An Coorevitscd Tsegaye Teklemichael Gebrekidan Evaluation of oprI and oprL genes as molecular markers for the genus *Pseudomonas* and their use in studying the biodiversity of a small Belgian River Research in Microbiology. Volume 164, Issue 3, April 2013, Pages 254-261 <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2012.12.001>

62. Веремеенко, Е. Г. Получение, характеристика и применение продуцентов феназиновых антибиотиков бактерий *Pseudomonas aurantiaca*: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Е. Г. Веремеенко. – Минск, 2010. – 22 с

63. Mohana, S. *Streptomyces* sp MA7 isolated from mangrove rhizosphere sediment effective against Gram negative bacterial pathogens / S. Mohana, M. Radhakrishnan // Int. J. Pharm. Technol. Res. – 2014. – Vol. 6. – P. 1259–1264.

64. Valery V Smirnov, Elena A Kiprianova, Aleksandra D Garagulya, Stanislav E Esipov, Svetlana A Dovjenko Fluviols, bicyclic nitrogen-rich antibiotics produced by *Pseudomonas fluorescens* FEMS Microbiology Letters, Volume 153, Issue 2, August 1997, Pages 357–361, <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1997.tb12596.x>

65. Jon B. Patteson Andrew T. Putz Lizhi Tao William C. Simke . Henry Bryant III . David Britt Biosynthesis of fluopsin C, a copper-containing antibiotic from *Pseudomonas aeruginosa* Science 18 Nov 2021 Vol 374, Issue 6570 pp. 1005-1009 DOI: 10.1126/science.abj6749

66. E. Joel Loveridge, a,b Cerith Jones,c Matthew J. Bull,c Suzy C. Moody,d Małgorzata W. Kahl,b Zainab Khan,b Louis Neilson,a,e Marina Tomeva,a,e Sarah E. Adams,b,* Andrew C. Wood,b Daniel Rodriguez-Martin, Ingrid

Pinel, Julian Parkhill, Eshwar Mahenthiralingam,с and John Crosby Reclassification of the Specialized Metabolite Producer *Pseudomonas mesoacidophila* ATCC 31433 as a Member of the Burkholderia cepacia Complex J Bacteriol. 2017 Jul 1; 199(13): e00125-17. doi: 10.1128/JB.00125-17

67. Guttenberger N, Blankenfeldt W, Breinbauer R. Recent developments in the isolation, biological function, biosynthesis, and synthesis of phenazine natural products. Bioorg Med Chem. 2017;25:6149–66

68. Ключко В.В., Зелена Л.Б., Чугунова К.О., Царенко П.М. Псевдомонады sp. штамм 2303 как активный фитопатогенный антагонист и его антибиотические свойства. Доп. НАНУ 2014. 161-166
10.15407/dopovidi2014.10.161

69. Jihane Achkar, Mo Xian, Huimin Zhao, and J. W. Frost Biosynthesis of Phloroglucinol. J. Am. Chem. Soc. 2005, 127, 15, 5332–5333.
<https://doi.org/10.1021/ja042340g>

70. Rongfeng Li, Ryan A Oliver, Craig A Townsend Identification and Characterization of the Sulfazecin Monobactam Biosynthetic Gene Cluster. Cell Chem Biol. 2017. Jan 19;24(1):24-34.doi: 10.1016/j.chembiol.2016.11.010

71. Чуркіна Л. М., Ключко В. В., Загородня С. Д., Ярошенко Л. В., Лютко О. Б. Особливості дії антибіотика батуміну на формування біоплівки у *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas batumici*. Biotechnologia Acta" Т. 11, № 2, 2018 С. 72-78 <https://doi.org/10.15407/biotech11.02.072>,

72. Yupeng Wan, Hongchen Liu, Mo Xian & Wei Huang Biosynthesis and metabolic engineering of 1-hydroxyphenazine in *Pseudomonas chlororaphis* H18 Microbial Cell Factories volume 20, Article number: 235 (2021)

73. Shraddha Pawar, Ambalal Chaudhari, Ratna Prabha, Renu Shukla and Dhananjaya P. Singh Microbial Pyrrolnitrin: Natural Metabolite with Immense Practical Utility Microbial Pyrrolnitrin: Natural Metabolite with Immense Practical Utility

74. Киприанова, Е. А., Шепелевич, В. В., Ключко, В. В., Остапчук, А. Н., Варбанец, Л. Д., Скоклюк, Л. Б., ... & Авдеева, Л. В. Антифунгальные и противовирусные вещества штаммов *Pseudomonas chlororaphis* subsp.

aureofaciens – компонентів гаупсина. Мікробіологічний журнал, (75,№ 6), 28-35. - Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/MicroBiol_2013_75_6_6

75. I. de Bruijn, M. J. D. de Kock, P. de Waard, T. A. van Beek, J. M. Raaijmakers. Massetolide A Biosynthesis in *Pseudomonas fluorescens*. Journal of Bacteriology.. Vol. 190, No. 8. DOI: <https://doi.org/10.1128/JB.01563-07>

76. Patteson, Jon B., et al. Biosynthesis of fluopsin C, a copper-containing antibiotic from *Pseudomonas aeruginosa*. *Science* 374.6570 (2021): 1005-1009. DOI: 10.1126/science.abj6749

77. Богданович Т.М., Страчунський Л.С. Мупироцин: унікальний антибіотик для місцевого застосування // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 1999. – №1. – Том 1. – с. 57 – 65.

78. Мищенко Н.П. Профилактика госпитальных стафилококковых инфекций как один из важнейших путей снижения риска послеоперационных осложнений. – 2012. – с. 14 – 15.

79. Мупироцин [Електронний ресурс] / Коляденко В.Г., Степаненко В.І. // Офіційний сайт: Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця. – Режим доступу: <http://www.umj.com.ua/article/2408/baktrobanovij-antibiotik-dlya-miscevogo-likuvannya-piodermii>

80. Christova N., Petrov P., Kabaivanova L. Biosurfactant Production by *Pseudomonas aeruginosa* BN10 Cells Entrapped in Cryogels. – Zeitschrift Für Naturforschung C, - 2013, - 68 (1-2), 47–52. doi:10.1515/znc-2013-1-207

81. Sian M. Cooper, Russell J. Cox, John Crosby, Matthew P. Crump, Joanne Hothersall, Wanpen Laosripaiboon. Mupirocin W, a Novel Pseudomonic Acid Produced by Targeted Mutation of the Mupirocin Biosynthetic Gene Cluster / School of Chemistry, University of Bristol, Cantock's Close, Bristol, BS8 1TS, UK. // . – 2002. – 1-XX. – P. 1 – 2

82. Patent N: US 7,439,045 B2. PH CONTROLLED FERMENTATION PROCESS FOR PSEUDOMONIC ACID PRODUCTION. / Eva Gulyas, Debrecen, Gabor Balogh, Janos Erdei, Peter Seress. // . – Publication data: feb. 6, 2003.

83. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія: підручник, 2-е вид., доп. і перероб. – К. :НУХТ, 2010. – 632 с. Patent N: US 0234503 A1. Purification of

mupirocin. / Eva Gulyas, Debrecen, Gabor Balogh, Janos Erdei, Peter Seress. // .–
Publication data: Sep. 25, 2008.

84. Пенчук Ю.М., Старовойтова С.О., Красінько В.О. Загальна біотехнологія: Лабораторний практикум для студ. напрям 6.051401 «Біотехнологія» ден. та заоч. форм навч. — К.: НУХТ, 2010. — 71 с.

85. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. – [Електронний ресурс].
– Режим доступу: http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?psk00010+U771_09945

86. Каустична сода (гранули) [Електронний ресурс] // Режим доступу:
[<http://nova-him.prom.ua/>]

87. Наказ МОЗ України «Про затвердження методичних рекомендацій щодо виконання санітарно-гігієнічних вимог та проведення мікробіологічного контролю у виробництві нестерильних лікарських засобів» від 14.12.2001. – № 502.

88. Біомой [Електронний ресурс] // Режим доступу:
[<http://www.datonal.org/?m0prm=3&m1prm=4&showItem=27>]

89. Карлаш Ю.В. Основи проектування біотехнологічних виробництв: Конспект лекцій для студентів напрям 6.051401 «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання / Уклад.: Ю.В.Карлаш - К: НУХТ, 2013. – 143 с.

90. Метилізобутилкетон [Електронний ресурс] // Режим доступу:
http://uk.swewe.org/word_show.htm/?1421192_1&Метилізобутилкетон

91. Етилацетат [Електронний ресурс] // Режим доступу:
<http://prom.ua/Etilatsetat.html>

92. Н- бутанол [Електронний ресурс] // Режим доступу:
<http://prom.ua/p19419977-butanol.html>

93. Контактне сушіння [Електронний ресурс] // Режим доступу:
<http://www.studfiles.ru/preview/2283056/page:8/>

94. Сушіння. Види сушіння. [Електронний ресурс] // Режим доступу:
<http://www.turkaramamotoru.com/uk/-65832.html>

95. Каустична сода. [Електронний ресурс] // Режим доступу: <http://uadoc.zavantag.com/text/22949/index-1.html>

96. ВИРОБНИЦТВО СТЕРИЛЬНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ [Електронний ресурс] // Режим доступу: http://5ka.at.ua/load/medicina_ta_zdorov_39_ja/novi_vimogi_do_virobnictva_sterilnih_likarskikh_form_zgidno_z_vimogami_gmp_referat/37-1-0-20225

97. Определение содержания азота в органических веществах за Попом та Стівенсом – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.spetskniga.ru/obuchenie/praktikum-po-tehnicheskomu-analizu-i-kontrolyu-proizvodstva-himiko-farmaceuticheskikh-preparatov-antibiotikov/opredelenie-soderzhanija-azota-v-organicheskikh-veshestvah.html>

98. Фотометрические методы определения амиака. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://c-carbon.info>.

99. *Пешикова В.М., Саяніна О.Я., Солдаткін О.О., Дзядевич С.В.* ТРАДИЦІЙНІ ТА БІОСЕНСОРНІ МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ МОНО- І ДИСАХАРИДІВ// Інститут молекулярної біології і генетики НАН України. – 2010. – № 3. – Том 3. – с. 9 – 22.