

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

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

«До захисту в ЕК»

Декан факультету

Наталія ГРЕГІРЧАК

(підпис)

(ім'я та прізвище)

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри

Віктор СТАБНІКОВ

(підпис)

(ім'я та прізвище)

«02» грудня 2024 р.

«02» грудня 2024 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА  
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»  
(код та назва спеціальності)  
освітньо-професійної програми «Промислова та фармацевтична  
біотехнологія»  
на тему: «Біотехнології бактеріальних пігментів»

Виконав: здобувач II курсу, групи 1

ТАГІЗАДА Єфим Мірлатіф Огли

(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

(підпис)

Керівник КАРЛАШ Юрій Васильович

(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

(підпис)

Консультанти

(ім'я та прізвище)

(підпис)

(ім'я та прізвище)

(підпис)

Рецензент

Олександр КРАВЧЕНКО

(ім'я та прізвище)

(підпис)

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

Здобувач

(підпис)

Київ – 2024 р.

# НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю  
Кафедра біотехнології і мікробіології  
Освітній ступінь магістр  
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»  
(код і назва)  
Освітньо-професійна програма «Промислова та фармацевтична  
біотехнологія»  
(назва)

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри біотехнології і  
мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“08” жовтня 2024 року

## ЗАВДАННЯ

### НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

ТАГІЗАДИ Єфима Мірлатіф Огли

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Біотехнології бактеріальних пігментів»

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від 07 жовтня 2024р. № 875-кс

2. Строк подання здобувачем роботи 01.12.2024

3. Вихідні дані до роботи: штам *Serratia marcescens* FZSF02 для отримання  
продигіозину з подальшим одержанням сонцезахисного крему.

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): РЕФЕРАТ, ВСТУП, РОЗДІЛ 1. Стан дослідження закордонними вченими,  
РОЗДІЛ 2. Властивості бактеріальних пігментів, РОЗДІЛ 3. Техніко-  
економічне обґрунтування, РОЗДІЛ 4. Обґрунтування вибору стадій  
технологічного процесу, РОЗДІЛ 5. Технологічні особливості отримання  
сонцезахисного крему з продигіозином, РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми  
післяферментаційного виділення та очищення продигіозину, РОЗДІЛ 7.  
Контроль виробництва, РОЗДІЛ 8 Проект заявки на корисну модель.  
Сонцезахисний крем на основі бактеріального пігменту продигіозину,

5. Перелік графічного матеріалу: Технологічна схема «Біотехнологія  
бактеріальних пігментів» – 1 аркуш формату А2. Апаратурна схема  
«Біотехнологія бактеріальних пігментів» – 1 аркуш формату А1.

## 6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання \_\_\_\_\_ 08 жовтня 2024 року \_\_\_\_\_

## КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	РОЗДІЛ 1. Стан дослідження закордонними вченими	01.10.2024 р. – 10.10.2024 р.	
2	РОЗДІЛ 2. Властивості бактеріальних пігментів	10.10.2024 р. – 13.10.2024 р.	
3	РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування	13.10.2024 р. – 17.10.2024 р.	
4	РОЗДІЛ 4. Обґрунтування вибору стадій технологічного процесу	17.10.2024 р. – 22.10.2024 р.	
5	РОЗДІЛ 5. Технологічні особливості отримання сонцезахисного крему з продигіозином	22.10.2024 р. – 26.10.2024 р.	
6	РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення та очищення продигіозину	21.10.2024 р. – 27.10.2024 р.	
7	РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва	27.10.2024 р. – 31.10.2024 р.	
8	РОЗДІЛ 8. Проект заявки на корисну модель. Сонцезахисний крем на основі бактеріального пігменту продигіозину	01.11.2024 р. – 06.11.2024 р.	
9	Оформлення апаратурної та технологічної схем	07.11.2024 р. – 20.11.2024 р.	
10	Оформлення вступу та реферату	22.11.2024 р. – 23.11.2024 р.	

**Здобувач**

\_\_\_\_\_ (підпис)

**Керівник роботи**

\_\_\_\_\_ (підпис)

**Єфим ТАГІЗАДА**

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище)

**Юрій КАРЛАШ**

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище)

## ABSTRACT

The qualification work is devoted to the development of a technological and hardware scheme for the process of isolation and purification of prodigiosin, which is synthesized during the cultivation of *Serratia marcescens* FZSF02.

The work considers the possible use of prodigiosin and establishes that the most possible and promising use of this pigment is in the cosmetic field, namely as a component of sunscreens. Based on the chosen use, the annual consumption of this pigment was calculated, which was approximately 176.3 kg.

The methods of isolation and purification of prodigiosin were considered, and it was determined that due to the lowest product losses and the highest degree of purity, it is advisable to use the following stages for the isolation and purification of the pigment from the culture liquid: biomass separation by centrifugation, extraction of prodigiosin with organic solvents from the precipitate and supernatant, concentration of extracts, purification of prodigiosin by gradient elution, concentration of the eluate, drying and grinding.

A scheme for the production of sunscreen with the obtained prodigiosin has been developed; the production process involves the preparation of aqueous, oil, and silicone phases, followed by emulsification of these phases.

The post-fermentation technological process involves auxiliary (storage of culture fluid and preparation of auxiliary solutions for purification of prodigiosin) and main activities (biomass extraction, prodigiosin extraction, concentration of extracts, purification of prodigiosin and drying of pigment).

The qualification work is presented on 87 pages of printed text, contains 8 tables and 1 figure. It consists of eight chapters, a list of references (100 sources) and a graphic part (2 drawings of A1 and A2 format).

Key words: *Serratia marcescens* FZSF02, bacterial pigment, prodigiosin, cosmetic products, skin protection.

## РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена розробленню технологічної та апаратурної схеми процесу виділення та очищення продигіозину, який синтезується при культивуванні *Serratia marcescens* FZSF02.

В роботі розглянуто можливе використання продигіозину, та встановлено що найбільш можливим та перспективним використанням даного пігменту є застосування в косметичній сфері, а саме в якості компоненту сонцезахисних кремів. За обраним використанням розраховано річну потребу даного пігменту, яка приблизно становила 176,3 кг.

Було розглянуто способи виділення та очищення продигіозину, та визначено що через найменші втрати продукту та найвищий ступінь чистоти, для виділення та очищення пігменту з культуральної рідини доцільно використовувати наступні стадії: виділення біомаси центрифугуванням, екстракція продигіозину органічними розчинниками з осаду та супернатанту, концентрування екстрактів, очищення продигіозину шляхом градієнтного елюювання, концентрування елюату, сушіння та подрібнення.

Розроблено схему виробництва сонцезахисного крему з отриманим продигіозином, процес виробництва передбачає приготування водної, олійної та силіконової фаз, з подальшим емульгуванням даних фаз.

Післяферментаційний технологічний процес передбачає наявність допоміжних (зберігання культуральної рідини та приготування допоміжних розчинів для очищення продигіозину) та основних робіт (виділення біомаси, виділення продигіозину, концентрування екстрактів, очищення продигіозину та сушіння пігменту).

Кваліфікаційна робота викладена на 87 сторінках друкованого тексту, містить 8 таблиць та 1 рисунок. Складається з восьми розділів, списку використаної літератури (100 джерел) та графічної частини (2 креслення формату A1 та A2).

Ключові слова: *Serratia marcescens* FZSF02, бактеріальний пігмент, продигіозин, косметична продукція, захист шкіри.

## ЗМІСТ

ABSTRACT .....	4
РЕФЕРАТ .....	5
ВСТУП .....	8
РОЗДІЛ 1. Стан дослідження закордонними вченими.....	9
1.1. Фіолетові, сині, блакитні та зелені бактеріальні пігменти .....	9
1.2. Жовті, оранжеві та червоні бактеріальні пігменти.....	13
РОЗДІЛ 2. Властивості бактеріальних пігментів.....	22
2.1. Антимікробні властивості .....	22
2.2. Протиракові властивості .....	24
РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування .....	27
3.1. Характеристика продигіозину .....	27
3.2. Огляд ринку продигіозину .....	29
3.3. Розрахунок річної потужності виробництва продигіозину .....	31
РОЗДІЛ 4. Обґрунтування вибору стадій технологічного процесу.....	33
4.1. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів отримання продигіозину .....	33
4.1.1. Виділення біомаси .....	34
4.1.2. Виділення продигіозину.....	35
4.1.3. Концентрування .....	37
4.1.4. Очищення продигіозину.....	38
4.1.5. Сушіння пігменту.....	39
4.2. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях .....	41
4.3. Специфікація обладнання .....	46

РОЗДІЛ 5. Технологічні особливості отримання сонцезахисного крему з продигіозином .....	48
5.2. Матеріальний баланс на партію сонцезахисного крему з продигіозином .....	50
5.3. Специфікація обладнання на партію сонцезахисного крему з продигіозином .....	52
РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення та очищення продигіозину .....	53
РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва.....	60
7.1. Контроль виробництва продигіозину .....	60
7.2. Контроль виробництва сонцезахисного крему з продигіозину .....	62
РОЗДІЛ 8. Проект заявки на корисну модель. Сонцезахисний крем на основі бактеріального пігменту продигіозину .....	69
8.1. Галузь і застосування корисної моделі .....	69
8.2. Відомі аналоги та їх основні недоліки.....	69
8.3. Мета та сутність винаходу .....	70
8.4. Детальний опис способу виготовлення .....	71
8.5. Властивості та переваги винаходу .....	73
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ .....	76

## ВСТУП

Підвищення обізнаності про вплив синтетичних пігментів на навколишнє середовище та здоров'я людини призвело до стрімкого зростання попиту на натуральні альтернативи. Синтетичні пігменти, які широко використовуються в таких галузях, як харчова, косметична та текстильна промисловість, часто містять шкідливі хімічні речовини, що становлять загрозу як для здоров'я людини, так і для довкілля. Зростаюче занепокоєння призвело до пошуку екологічно чистих, стійких пігментів, які не поступаються за своїми характеристиками синтетичним аналогам [1, 2]. Продигіозин, пігмент бактеріального походження, є багатообіцяючим кандидатом у цьому контексті, оскільки він має природне походження, та його виробництво може значно зменшити шкідливий вплив на навколишнє середовище.

Продигіозин – це яскраво червоний пігмент, що виробляється різними видами бактерій, зокрема *Serratia marcescens* [3]. Окрім яскравого кольору, продигіозин відзначається різноманітною біологічною активністю, зокрема антибактеріальними, протигрибковими та протираковими властивостями. Як природний пігмент, продигіозин має значні переваги над синтетичними барвниками, особливо з точки зору біологічного розкладання та безпеки [4].

Зрештою, подвійна роль продигіозину як природного пігменту та біологічно активної сполуки підкреслює його важливість як у наукових дослідженнях, так і в промисловому застосуванні. Переваги заміни синтетичних пігментів на проидіозин для навколишнього середовища та здоров'я очевидні, але реалізація його повного потенціалу вимагає подолання проблем, пов'язаних з виробництвом та стабільністю [5]. Постійні дослідження та інновації в цій галузі необхідні для розкриття переваг продигіозину, прокладаючи шлях до його широкого впровадження як стійкої та безпечної альтернативи синтетичним барвникам.

					НУХТ БТЕК 02.01.21 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Тагізада С.М.			Вступ	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Карлаш Ю.В.					7	1
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

## РОЗДІЛ 1. Стан дослідження закордонними вченими

На сьогодні бактеріальні пігменти набирають все більшої популярності та поступово витісняють синтетичні барвники в продуктах харчування, фармацевтичній, текстильній та косметичній промисловості, через меншу токсичність та володіння протимікробними, протираковими, антиоксидантними, протизапальними та протиалергічними властивостями, а також через економічний потенціал даних речовин (пошук альтернативних шляхів синтезу пігментів тобто оптимізація процесу ферментації, використання відходів виробництв в якості попередника синтезу та генна-модифікація мікроорганізмів з метою збільшеного синтезу пігментів) [6].

До мікробних пігментів можна віднести: атаксантин, кантаксантин, каротиноїди, меланіни, гранадаєн, індигоїдин, флавіни, хінони та, зокрема, монасцини, продігіозин, піоціанін, рубролен, сцитонемін, віолацеїн [7]. Враховуючи велику кольорову палітру бактеріальних пігментів, розглянемо більш детально особливості синтезу даних речовин по групам, поділ пігментів проведемо по видимому спектру на дві групи, в першу групу віднесемо пігменти які відбивають світло при довжині хвилі 380-565 нм (фіолетовий, синій, блакитний та зелений), а в другу групу - 565-740 (жовтий, помаранчевий і червоний).

### 1.1. Фіолетові, сині, блакитні та зелені бактеріальні пігменти

До даної групи можна віднести наступні бактеріальні пігменти: віолацеїн, індигоїдин та фікоціанін, розглянемо більш детально біотехнологічні особливості виробництва даних пігментів.

Віолацеїн – це бактеріальний пігмент фіолетового забарвлення, який проявляє протигрибкові, противірусні протипухлинну та антиоксидантні властивості [8].

					НУХТ БТЕК 02.01.21 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Тагізада Є.М.			РОЗДІЛ 1. Стан дослідження закордонними вченими	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Карлаш Ю.В.					8	13
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

*Sun* з співавторами вивчали генну модифікацію *Corynebacterium glutamicum* ATCC 21850 з метою збільшеного синтезу віолацеїну, через спроможність даного біологічного агента до синтезу триптофану, який є попередником даного пігменту, в великих концентраціях [9]. Під час проведення дослідів, вчені сконструювали модифікований штам *Corynebacterium glutamicum* ATCC 21850(*pEC-C-vio1*) шляхом надекспресії *vio*-оперону з *Chromobacterium violaceum*. Культивування модифікованого мікроорганізму проводили в реакторі 3 л з внесенням підживлювального розчину глюкози, процес ферментації відбувався 120 год, процес ферментації складався з двох фаз, перша це накопичення біомаси при 200 об/хв та 30 °C впродовж 12 год на поживному середовищі з глюкозою в якості джерела вуглецю та кукурудзяним екстрактом і амонієм сульфатом в якості джерела азоту, та друга це синтез пігменту, на даній стадії відбувається зниження температури та внесення індуктора (0,5 мМ ізопропіл-β- D -тіогалактозиду). В результаті культивування модифікований штам синтезував 5436 мг/л віолацеїну.

*Zhou* з співавторами в 2018 році [10] дослідив синтез віолацеїну шляхом конструювання модифікованого штаму *Escherichia coli*. В результаті дослідів було розроблено модифікований штам *E. coli* B8/*pTRPH1-pVio-VioE* шляхом надекспресії *vioE* відповідального за синтез пігменту. В результаті вирощування даного мікроорганізму на середовищі з глюкозою в якості джерела вуглецю при 37 °C та 200 об/хв і в подальшому індукції за допомогою 0,05 мМ ізопропіл-β- D-тіогалактозиду та пониженням температури до 20 °C, за 48 год було синтезовано 4,45 г/л віолацеїну.

В 2020 році вчені досліджували можливість синтезу віолацеїну бактеріями виділеними з льодовиків Антарктики [11]. Ізольований мікроорганізм відносився до роду *Janthinobacterium* точну видову приналежність в роботі не встановлено, для визначення можливості синтезу даного пігменту *Janthinobacterium* UV13 вирощували в триптичному соєвому

бульйоні з додатковим внесенням глюкози при 20 °С та 200 об/хв впродовж 48 год, в результаті вирощування було синтезовано 77 мг/л віолацеїну.

*Gohil* з співавторами розглядав можливість використання відходів аграрної промисловості для синтезу віолацеїну [12]. В результаті досліджень було встановлено що при використанні 2 % соєвого шроту в поживному середовищі а також при додатковому внесенні 100 мг/л триптофану *Chromobacterium violaceum* синтезував 1198 мг/л пігменту.

Індигоїдин – бактеріальний пігмент синього кольору, який характеризується антиоксидантною та антимікробною активністю [13].

*Yu* з співавторами досліджували вплив експресії гену *Sc-indC* виділеного з *Streptomyces chromofuscus* ATCC 49982 в *Streptomyces coelicolor* CH999 та *Escherichia coli* ВАР1 [14]. Під час проведення даного дослідження вчені ампліфікували за допомогою полімеразної ланцюгової реакції ген *Sc-indC* з геному *S. chromofuscus* ATCC 49982 та в подальшому розміщали його в вектори експресії рJX28 для *S. coelicolor* CH999 та рЕТ28а для *E. coli* ВАР1. Отриманий штам *S. coelicolor* CH999 культивувати на середовищі R5 з додаванням 50 мкг/мо тіострептону при 30 °С, 250 об/хв впродовж 5-7 діб. В результаті даний штам набув здібність синтезувати синій пігмент (індигоїдин) а максимальний титр, 593,5 мг/л спостерігався після 6 діб культивування. Культивування рекомбінантного штаму *E. coli* ВАР1 проводили на середовищі ЛБ з внесенням 50 мкг/мл канаміцину при 37 °С і 250 об/хв та при значенні OD600 – 0,6 вносили 200 мкМ ізопропіл-1-тіо-β- D-галактопіранозиду та зменшували температуру до 18 °С для індукції експресії гену. В результаті отриманий штам *E. coli* ВАР1 синтезував індигоїдин у концентрації 2,78 г/л через 28 год після внесення індуктора.

В 2015 році *Xu* з співавторами продовжив попередню роботу над синтезом індигоїдину культивуванням генно-модифікованого штаму *Escherichia coli* ВАР1/ *Sc-IndC+Sc-IndB* [15]. В даній роботі вчені досліджували вплив внесення L-глутаміну (попередника індигоїдину) на надсинтез пігменту. Так при внесенні 1,46 г/л глутаміну в поживне середовище

спостерігалось збільшення концентрації пігменту до значення 8,81 г/л, але враховуючи велику вартість глютаміну вчені сконструювали модифікований штам який вміщував ген глютамінсинтетази (*GlnA*), так отриманий штам *E. coli* VAP1/*Sc-IndC+Sc-IndB+GlnA* культивували при вищезазначених умовах (середовище ЛБ, 37 °С, 250 об/хв, при досягненні OD600 – 0,6 вносили 200 мкМ ізопропіл-1-тіо-β- D-галактопіранозиду та понижували температуру до 18 °С), але через 30 хв після внесення індуктора в середовище вносили (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> у концентрації 2,5 мМ, що в результаті призвело до кінцевого титру 7,08 г/л індигоїдину.

*Banerjee* з співавторами в 2020 році провели дослідили експресію генів в *Pseudomonas putida* KT2440 з метою надсинтезу індигоїдину [16]. Під час досліджень було створено генно-модифікований штам в який експресували гени *bpsA* та *sfp*, перший відповідає за синтез пігменту у *Streptomyces lavendulae*, а другий необхідний для активації першого отриманий від *Bacillus subtilis*. Сконструйований штам вирощували при постійному перемішуванні 800 об/хв при 30 °С впродовж 48 год на поживному середовищі M9 з 10 г/л глюкози 3 г/л - арабінози, та 30 мМ NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, з внесенням підживлювального розчину. В результаті культивування сконструйований штам синтезував 12,5 г/л індигоїдину, а також порівнювали використання галактози в якості джерела вуглецю на заміну глюкози, в результаті при проведенні процесу замінивши глюкози на галактозу в таких же концентраціях кінцева концентрація індигоїдину становила 25,6 г/л.

В 2021 році вчені провели дослідження з надсинтезу індигоїдину в генно-модифікованому штамі *Corynebacterium glutamicum* BIRU1 [17]. Для створення рекомбінантного штаму *Corynebacterium glutamicum* BIRU1 вчені провели клонування гену *bpsA* з *Streptomyces lavendulae* в *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 використовуючи вектор експресії pЕКEx1. Культивування *C. glutamicum* BIRU1 проводили при 200 об/хв, 37 °С, впродовж 72 год, на середовищі яке вміщує в якості джерела вуглецю 70 г/л глюкози, а в якості джерела азоту 40 г/л - (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. В результаті

вирощування даного штаму він виробляв 7,3 г/л індигоїдину. В подальшому вони модифікували даний штам що дозволило оптимізувати внутрішньоклітинне постачання попередників глутамату та глутаміну та зменшити кількість синтезованого побічних продуктів, та провели періодичне культивування з внесенням підживлювального розчину глюкози та розчину солей. В результаті модифікований штам *Corynebacterium glutamicum* BIRU11 синтезував 49,3 г/л індигоїдину за 51 год культивування.

## **1.2. Жовті, оранжеві та червоні бактеріальні пігменти**

Дана група за спектром знаходиться в діапазоні видимого світла 565-740 нм, до даної групи бактеріальних пігментів можна віднести продигіозин, зеаксантин, кантаксантин, астаксантин та інші.

Продигіозин – це червоного забарвлення пігмент, який здатні синтезувати бактерії виду *Serratia marcescens*, володіє низькою цитотоксичністю та високою апоптотичною активністю у багатьох лініях ракових клітин [18].

В 2015 вчені досліджували вплив додаткового внесення пептону баранячого рогу на синтез продигіозину під час культивування виділеного штаму з полів забруднених пестицидами [19]. Виділений штам ідентифікували як *Serratia marcescens* MO-1 та при вирощуванні даного біологічного агента на середовищі в якому манітол виступав в якості джерела вуглецю, а дріжджовий екстракт виступав в якості джерела азоту, з додатковим внесенням 0,4 % пептону баранячого рогу, синтезував 277,74 мг/л продигіозину за 48 год, при 28 °С та 200 об/хв.

В 2016 році вчені досліджували синтез продигіозину при використанні твердофазного методу культивування в якості інерційної матриці використовували жом (багаса) [20]. Під час дослідів було встановлено що *Serratia marcescens* Xd-1 при твердофазному культивуванні спроможний синтезувати пігмент, а також в подальшому було проведено оптимізацію середовища, та визначено що оптимальним варіантом є використання середовища в якому в якості джерела вуглецю виступає гліцерин, а в якості

джерела азоту соєвий пептон. При використанні даного середовища через 48 год культивування при 28 °C та перемішуванні через кожні 12 год *Serratia marcescens* Xd-1 синтезував 40,86 г/кг сухої речовини продигіозину.

*Domröse* з співавторами досліджували можливість синтезу продигіозину в генно-модифікованому штамі *Pseudomonas putida* [21]. Для вивчення спроможності синтезу пігменту за допомогою *Pseudomonas putida* конструювали генно-модифікований штамі для цього кластер гену *pig* з *Serratia marcescens* W838 інтегрували в хромосому *Pseudomonas putida* KT2440, та вирощували отриманий штамі *Pseudomonas putida pig-r2* на середовищі який вміщував казеїн та гліцерин в якості джерела вуглецю та дріжджовий екстракт в якості джерела азоту, впродовж 48 год при 20 °C та постійному перемішуванні 120 об/хв. В результаті культивування отриманий штамі синтезував 94 мг/л продигіозину.

*Nguyen* з співавторами вивчали вплив використання морського хітину на вихід продигіозину [22]. В якості основного джерела вуглецю використовували  $\alpha$ -хітин і  $\beta$ -хітин отриманий з панцерів креветок та кальмарів. Досліджуючи використання хітину в якості основного джерела вуглецю для синтезу пігменту, було встановлено що оптимальним варіантом поживного середовища є 1 %  $\alpha$ -хітину отриманого з панцерів креветок (використовується в якості джерела вуглецю) та 0,6 % казеїну (використовується в якості джерела азоту). При вирощуванні на даному поживному середовищі впродовж 48 год при температурі 25 °C, *Serratia marcescens* TKU011 синтезував 4 620 мг/л продигіозину.

В 2014 році *Sumathi* з співавторами оцінили використання м'ясних відходів (МВ) шкіряного виробництва для синтезу продигіозину [23]. Під час експериментів було визначено оптимальну концентрацію МВ, яка становила 3 % та було проведено оптимізацію умов культивування *Serratia marcescens* NPLR1 на даному поживному середовищі. Найкращі показники синтезованого пігменту 4 700 мг/л спостерігались при внесенні 8 % початкового інокуляту, рН 8,0, 30 °C впродовж 40 год культивування.

В 2019 році вчені досліджували вплив на виробництво продигіозину під час культивування *Serratia marcescens* FZSF02, арахісової пасти та оливкової олії [24]. Під час експериментів було визначено, що при використанні глюкози в якості джерела вуглецю та арахісового порошку з екстрактом яловичини в якості джерела азоту і додатковим внесенням оливкової олії на початку культивування та через 24 год, спостерігається найбільший кінцевий показник синтезованого пігменту, а саме 15 420,9 мг/л, при вирощуванні штаму за температури 26 °С, впродовж 72 год та постійному перемішуванні 180 об/хв.

*Bhagwat* з співавторами вивчали можливість синтезу продигіозину на недорогих природних субстратах, а саме макуху [25]. В процесі дослідів було визначено що оптимальним варіантом є використання макухи з насіння арахісу, при використанні якої в поживному середовищі в якості джерела вуглецю з додатковим внесенням сахарози та гідролізату казеїну *Serratia marcescens* ATCC 13880 за 72 год культивування при температурі 28 °С, синтезував пігменту.

*Aruldass* з співавторами розглядали можливість використання коричневого цукру в якості недорогого субстрату для росту *Serratia marcescens* UTM1 та синтезу продигіозину [26]. В ході дослідів в якості поживного середовища використовували живильний бульйон з додатковим внесенням 10 % коричневого цукру, також було визначено оптимальні умови вирощування (25 °С, 200 об/хв та 24 год), при яких концентрація синтезованого пігменту становила 8 109 мг/л.

*Cook* з співавторами в 2021 році досліджували шляхи створення генно-модифікованого штаму *Pseudomonas putida*, для збільшення синтезу продигіозину [27]. В результаті експериментів вчені створили генно-модифікований штаму *Pseudomonas putida* PIG02, який при вирощуванні на середовищі, в якому в якості джерела вуглецю виступав гліцерин, а в якості джерела азоту фосфат амонію, впродовж 48 год, при 30 °С синтезував 1,1 г/л продигіозину.

Зеаксантин пігмент жовтого забарвлення, який присутній в шкірі людини, він демонструє захисну дію при неврологічних розладах через наявність протизапальних, антиоксидантних та антиапоптотичних механізмів, а також даний пігмент відіграє роль у протиалергічних та протизапальних реакціях [28].

Li з співавторами в 2015 році провели оптимізацію біосинтетичного шляху від лікопіну до зеаксантину в рекомбінантному штамі *Escherichia coli* [29]. Для оптимізації шляху використовували генно-модифікований штам *Escherichia coli* створений для надсинтезу лікопіну, попередника зеаксантину, *E. coli* LYCOP та плазмиду pZSBPA з двома копіями кодон-оптимізованого *P. agglomerans crtZ* під контролем промотору P37, ген *crtZ* характеризувався лімітувальною стадією біосинтезу зеаксантину. В результаті сконструйований штам *E. coli* BETA-1 [pZSAPB-2(P37-crtZ<sub>PAN</sub>)] синтезував 43,46 мг/л зеаксантину за 48 год культивування на середовищі з пептоном та дріжджовим естрактом, при 150 об/хв та 30 °С.

Shen з співавторами працювали над оптимізацією метаболічного шляху в генно-модифікованому штамі *Escherichia coli*, для надсинтезу зеаксантину [30]. В процесі конструювання штаму в *E. coli* вводили гени динамічно контрольованого TIGR-опосередкованого шляху MEV. В результаті сконструйований штам *E. coli* ZEAX (pZSP<sub>gadE</sub>-MevT<sub>TIGR</sub>-MevB<sub>TIGR</sub>IS-2) при культивуванні на середовищі в якому пептон виступав в якості джерела вуглецю, а дріжджовий екстракт в якості джерела азоту впродовж 60 год при 30 °С та 400 об/хв та внесенні підживлювального розчину глюкози в процесі ферментації, синтезував 722,46 мг/л пігменту.

Joshi з співавторами проводили оптимізацію середовища при культивуванні *Paracoccus zeaxanthinifaciens* для синтезу зеаксантину [31]. В результаті досліджу було встановлено що оптимальне поживне середовище для синтезу зеаксантину при вирощуванні *Paracoccus zeaxanthinifaciens* ATCC 21588, мало наступний склад, г/л : глюкоза – 24,3, дріжджовий екстракт – 30, метилпальмітату – 8 та піридоксину гідрохлориду – 0,18 мг. При вирощуванні

продуцента на даному поживному середовищі впродовж 72 год культивування при температурі 30 °С було синтезовано 11,63 мг/л зеаксантину.

В подальшому в 2017 році дані автори проводили оптимізації процесу ферментації в ферментері для синтезу зеаксантину при культивуванні *Paracoccus zeaxanthinifaciens* ATCC 21588 [32]. Під час дослідів вчені розглядали декілька параметрів які намагались оптимізувати, а саме об'єм початкового інокуляту, час інкубації інокуляту та швидкість подачі повітря. В результаті дослідів було визначено що оптимальними значенням процесу ферментації були наступні значення швидкість подачі повітря 3,5 л/л\*хв, об'єм інокуляту 4 %, а час культивування інокуляту 55,8 год, при даних параметрах в результаті ферментації спостерігався синтез зеаксантину з концентрацією 15,09 мг/л.

В 2020 році науковці проводили оцінку та оптимізацію синтезу зеаксантину за допомогою *Flavobacterium* sp. P8 [33]. Штам *Flavobacterium* sp. P8 був ізольований з морської води біля острова Кінг-Джордж в Антарктиді процес вирощування проводили на декількох поживних середовищах, в результаті досліджень було визначено що середовище з наступним складом, (г/л): пептон – 7, дріжджовий екстракт – 7 та хлорид натрію – 15, було оптимальним для синтезу пігменту. При вирощуванні біологічного агента на даному середовища при 20 °С впродовж 72 год та постійному перемішуванні 200 об/хв, концентрація синтезованого пігменту становила 2,15 мг/л.

Кантаксантин пігмент якому притаманне червоно-помаранчеве забарвлення, даний пігмент володіє антиоксидантними, імуномодуючими властивостями [34].

*Rostami* з співавторами в 2014 році досліджували оптимізацію процесу культивування *Dietzia natronolimnaea* HS-1 для синтезу кантаксантину [35]. В результаті дослідів максимальний синтез кантаксантину 5,07 мг/л, спостерігався при концентрації глюкози 23,38 г/л, швидкості аерації 7,85 л/л\*хв, та при внесенні  $31,2 \times 10^9$  КУО/мл, процес культивування проводили при 180 об/хв, впродовж 7 діб.

*Gharibzahedi* з співавторами проводили оптимізацію синтезу кантаксантину при вирощуванні *Dietzia natronolimnaea* HS-1 [36]. Під час досліджень оптимізацію проводили по наступним параметрам: концентрації гідролізованої меляси в поживному середовищі та швидкість внесення підживлювального розчину. Культивування відбувалось на поживному середовищі в якому в якості джерела вуглецю слугувала гідролізована меляса, а в якості джерела азоту дріжджовий екстракт, культивування проводили при 28 °С, 130 об/хв, та постійній аерації 3 л/л\*хв впродовж 144 год. В результаті оптимізації процесу ферментації (швидкість внесення підживлювального розчину 6,4 мл/год та концентрація гідролізованої меляси 45,9 г/л) було досягнуто максимального синтезу пігменту у концентрації 14,63 мг/л.

В 2021 році вчені вивчали вплив параметрів культивування *Dietzia maris* AURCCBT01 на синтез кантаксантину [37]. В ході експериментів було встановлено що концентрація глюкози і натрію хлориду та рівень рН мали найбільший вплив на синтез біомаси та пігменту. Визначивши оптимальні значення даних параметрів (концентрація глюкози 12,5 г/л, концентрація натрію хлориду 0,6 г/л, рівень рН 7) та впровадивши їх в процесі культивування за 48 год культивування було синтезовано приблизно 3 мг/л кантаксантину.

Астаксантин це пігмент який володіє червоним забарвленням, він демонструє антиоксидантні, протизапальні, протидіабетичні, імуномодуляційні властивості, також на сьогодні є дослідження які демонструють його протиракову активність [38].

В 2019 році *Lu* з співавторами оцінювали вплив інженерії окисного стресу на синтез астаксантину у *Escherichia coli* [39]. Модифікований штам *E. coli* ASTA-4 був розроблений шляхом нокауту генів пов'язаних з морфологією та мембраною (*lpp*, *bamB*, відповідно) та генів пов'язаних з окисним стресом (*uspE*, *uggE*). В результаті при вирощуванні впродовж 48 год при 30°C та 150 об/хв концентрація синтезованого астаксантину становила 11,92 мг/г сухої біомаси.

Lu з співавторами здійснювали метаболічну інженерію *Escherichia coli* для отримання вищих концентрацій астаксантину [40]. В процесі дослідів було встановлено що гени *crtW* з *Brevundimonas* sp. SD212 та *crtZ* з *Pantoea ananatis* *crtEVIYZ* є найкращою комбінацією генів для виробництва астаксантину. Отриманий модифікований штам *E. coli* ASTA-1 вирощували на середовищі в якому в якості джерела вуглецю виступала сахароза та пептон, а в якості джерела азоту дріжджовий екстракт, культивування проводили при 37 °C впродовж 48 год при 150 об/хв. В результаті вирощування модифікований штам синтезував астаксантин у концентрації 7,4 мг/г сухої біомаси.

Gong з співавторами в 2020 році проводили дослідження з метою збільшення виробництва астаксантин шляхом балансування експресії генів *crtW* та *crtZ* в *Escherichia coli* CAR026 [41]. Створений генно-модифікований штам *Escherichia coli* Gro-46 проявляв найкращий показник кінцевої концентрації пігменту 1,18 г/л (6,17 мг/г сухої біомаси). Культивування проводили при 30 °C, 250 об/хв та з внесенням підживлювального розчину впродовж 60 год.

Таблиця 1.1

#### Узагальнена характеристика продуцентів бактеріальних пігментів

Продуцент	Джерело вуглецю/ азоту	Час культивування, год	Концентрац ія пігменту	Посил ання
<b>Віолацеїн</b>				
<i>Corynebacteriu m glutamicum</i> AT CC 21850( <i>pEC- C-vio1</i> )	Глюкоза/ кукурудзяний екстракт, амоній сульфат	120	5436 мг/л	9
<i>Escherichia coli</i> B8/ <i>pTRPH1 -pVio-VioE</i>		48	4 450 мг/л	10
<i>Janthinobacteri um</i> UV13	Глюкоза, казеїновий пептон, пептон соєвий	48	77 мг/л	11
<i>Chromobacteriu m violaceum</i>	Соєвий шрот/ триптофан		1198 мг/л	12

<b>Індигоїдин</b>				
<i>E. coli</i> BAP1	Пептон / дріжджовий екстракт	28 год після внесення індуктора	2,78 г/л	14
<i>E. coli</i> BAP1/Sc- <i>IndC+Sc- IndB+GlnA</i>	Пептон / дріжджовий екстракт, гідрофосфат амонію	-	7,08 г/л	15
<i>Pseudomonas putida</i> KT2440/ <i>bpsA+s fp</i>	Глюкоза, арабіноза / гідрофосфат амонію	48	12,5 г/л	16
<i>Corynebacteriu m glutamicum</i> BIRU11	Глюкоза / гідрофосфат амонію	51	49,3 г/л	17
<b>Продигіозин</b>				
<i>Serratia marcescens</i> MO-1	Манітол / дріжджовий екстракт	48	277,74 мг/л	19
<i>Serratia marcescens</i> Xd- 1	Гліцерин / соєвий пептон (Твердофазне культивування матриця жом багаса)	48	40,86 г/кг сухої речовини	20
<i>Pseudomonas putida</i> pig-r2	Казеїн, гліцерин / дріжджовий екстракт	48	94 мг/л	21
<i>Serratia marcescens</i> TKU011	α-хітину / казеїну	48	4 620 мг/л	22
<i>Serratia marcescens</i> NPLR1	м'ясні відходи шкіряного виробництва	40	4 700 мг/л	23
<i>Serratia marcescens</i> FZSF02	Глюкоза / арахісовий порошок, екстракт яловичини	72	15 420,9 мг/л	24
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	Арахісова макуха, сахароза / казеїн	72	3 500 мг/л	25
<i>Serratia marcescens</i> UTM1	Пептон, коричневий цукор / дріжджовий екстракт	24	8 109 мг/л	26
<i>Pseudomonas putida</i> PIG02	Гліцерин / фосфат амонію	48	1 100 мг/л	27

<b>Зеаксантин</b>				
<i>Escherichia coli</i> BETA-1 [pZSAPB- 2(P37-crtZ <sub>PAN</sub> )]	Пептон / дріжджовий екстракт	48	43,46 мг/л	29
<i>Escherichia coli</i> ZEAX (pZSP <sub>gadE</sub> - MevT <sub>TIGR</sub> - MevB <sub>TIGRIS-2</sub> )	Пептон, глюкоза / дріжджовий екстракт	60	722,46 мг/л	30
<i>Paracoccus</i> <i>zeaxanthinifaciens</i> ATCC 21588	Глюкоза / дріжджовий екстракт	72	11,63 мг/л	31
<i>Paracoccus</i> <i>zeaxanthinifaciens</i> ATCC 21588	Глюкоза / дріжджовий екстракт	55,8	15,09 мг/л	32
<i>Flavobacterium</i> sp. P8	Пептон / дріжджовий екстракт	72	2,15 мг/л	33
<b>Кантаксантин</b>				
<i>Dietzia</i> <i>natronolimnaea</i> HS-1	Глюкоза, пептон / дріжджовий екстракт	168	5,07 мг/л	35
<i>Dietzia</i> <i>natronolimnaea</i> HS-1	Гідролізована меляса, пептон / дріжджовий екстракт	144	14,63 мг/л	36
<i>Dietzia maris</i> AURCCBT01	Глюкоза, пептон / дріжджовий екстракт	48	3 мг/л	37
<b>Астаксантин</b>				
<i>Escherichia coli</i> ASTA-4	Пептон / дріжджовий екстракт	48	11,92 мг/г біомаси	39
<i>Escherichia coli</i> ASTA-1	Сахароза, пептон / дріжджовий екстракт	48	7,4 мг/г біомаси	40
<i>Escherichia coli</i> Gro-46	Триптон / дріжджовий екстракт	60	6,17 мг/г біомаси	41

## РОЗДІЛ 2. Властивості бактеріальних пігментів

Бактеріальні пігменти це широкий клас сполук які володіють широким спектром властивостей, а саме: протигрибкові, антибактеріальні, противірусні, протипухлинні, антиоксидантні, протизапальні, протидіабетичні, імуномодуляційні властивості [42], однак найбільш цікавими на сьогодні є антимікробні та протипухлинні властивості, так як в світі досі немає ліків від раку з мінімальними побічними ефектами та з широким спектром використання, а також з кожним роком все більше збільшується кількість смертей в результаті резистентних до антибіотиків мікроорганізмів [43].

### 2.1. Антимікробні властивості

Набуття мікроорганізмами резистентності призводить до всесвітнього занепокоєння, через що нині вчені проводять дослідження спрямовані на пошук природних речовин які володіють сильними антимікробними властивостями, дану участь не оминули і бактеріальні пігменти, розглянемо дослідження спрямовані на дану тематику

*Dodou* з співавторами в 2017 році дослідили антимікробні властивості віолацеїну по відношенню до *Staphylococcus epidermidis* [44]. В ході дослідів було визначено що даний пігмент проявляє бактериостатичну дію по відношенню до *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 при концентрації 20 мкг/мл, а для *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 при 10 мкг/мл, і демонструє бактерицидну дію по відношенню до обох штамів при концентрації 20 мкг/мл.

У 2018 році вчені оцінили антибактеріальну дію віолацеїну отриманого при культивуванні *Chromobacterium violaceum* UTM5 проти *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 та штаму стійкого до метициліну

					НУХТ БТЕК 02.01.21 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Тагізада Є.М.				РОЗДІЛ 2. Властивості бактеріальних пігментів	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.	Карлаш Ю.В.						21	5
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.							

*Staphylococcus aureus* ATCC 43300 [45]. В результаті було встановлено що віолацеїн проявляє бактериостатичну активність проти *S. aureus* ATCC 29213 та *S. aureus* ATCC 43300 з мінімальною інгібіторною концентрацією 3,9 мкг/мл.

В 2021 році *Dike-Ndudim* з співавторами дослідили протигрибкову дію віолацеїну на *Aspergillus niger* і *Candida albicans*, які є збудниками мікозу людини [46]. В результаті віолацеїн демонстрував значну інгібуючу активність по відношенню до *A. nigers* (МІК = 8,75 мкг/мл) і до *C. albicans* (МІК = 4,38 мкг/мл).

*Lapenda* з співавторами дослідили антимікробні властивості продигіозину отриманого при культивуванні *Serratia marcescens* UFPEDA 398 [47]. В ході експериментів було визначено що отриманий пігмент демонструє значне інгібування *Staphylococcus aureus* UFPEDA 01 (35 мм), *Enterococcus faecalis* UFPE 138 (22 мм) та *Streptococcus pyogenes* UFPE 07 (14 мм), проте він не проявив інгібування *Escherichia coli* UFPEDA 224, *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 39 та *Acinetobacter* sp. UFPE 993. Також в даному експерименті було визначено мінімальну інгібуючу концентрацію для 20 штамів оксацилінрезистентного *Staphylococcus aureus*, в результаті даний показник становив від 1 мкг/мл до 4 мкг/мл.

В 2018 році вчені розглянули оцінили антимікробні властивості продигіозину отриманого при культивуванні *Chamaecyparis lawsoniana* HDZK-BYSB107 по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* і *Enterobacter aerogenes* [48]. В результаті продигіозин демонстрував антимікробну дію проти *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. cloacae* та *E. aerogenes* при внесенні 0,1 мг діаметр зони інгібування становив 24,02, 22,74, 18,32, 14,52 та 10,10 мм, відповідно, а показник IC<sub>50</sub> становив 1,82 мкг/мл для *S. aureus*, 1,81 мкг/мл для *E. coli*, 1,76 мкг/мл для *P. aeruginosa*, 1,72 мкг/мл для *E. cloacae* та 1,65 мкг/мл для *E. aerogenes*.

Її з співавторами досліджували антимікробні властивості продигіозину отриманого при культивуванні *Serratia* sp. PDGS<sup>120915</sup> [49]. В результаті дослідів було визначено що продигіозин виявляє високу антимікробну активність проти *Listeria monocytogenes* КССМ 40307, *Bacillus cereus* КССМ 11204, *Pseudomonas aeruginosa* КССМ 11266, *Salmonella typhimurium* КССМ 40253, *Staphylococcus aureus* КССМ 11593 і *Vibrio parahaemolyticus* КССМ 11965, показник мінімальної інгібуючої концентрації становив 32 мкг/мл для *L. monocytogenes* КССМ 40307, 64 мкг/мл для *B. cereus* КССМ 11204, *P. aeruginosa* КССМ 11266, *S. typhimurium* КССМ 40253 та *V. parahaemolyticus* КССМ 11965, і 512 мкг/мл для *S. aureus* КССМ 11593. Одна досліджувані концентрації не проявили антимікробного ефекту по відношенню до *Bacillus subtilis* КССМ 11779, *Enterococcus faecalis* КССМ 12448, *Klebsiella pneumonia* КССМ 11418 та *Escherichia coli* КСТС 1116.

В 2021 році *Rather* з співавторами дослідили антимікробні властивості неочищеного екстракту астаксантину отриманого при вирощуванні *Haematococcus pluvialis* [50]. Отриманий екстракт астаксантину демонстрував антибактеріальну дію по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholera* та *Escherichia coli*, зона інгібування яких становила 9,1, 9,8, 10,1 та 10,2 мм, відповідно.

*Korun* з співавторами досліджували антибактеріальний ефект астаксантину по відношенню до *Aeromonas sobria* та *Aeromonas hydrophila* [51]. В ході досліджень було встановлено що використання астаксантину розчиненого в ацетоні проявляє інгібування обох біологічних агентів, проте зона інгібування для *A. sobria* становила 13-16 мм (для концентрації 0,1-1 г астаксантину), в той час як зона інгібування для *A. hydrophila* становила 13-18 мм (для концентрації 0,1-0,5 г астаксантину).

## 2.2. Протиракові властивості

Дослідження нових натуральних продуктів може відіграти ключову роль в відкритті нових ліків від раку, через що на сьогодні велика кількість вчених досліджує різні сполуки для визначення їх протипухлинних властивостей, в

тому числі і бактеріальних пігментів, розглянемо більш детально наявні на сьогодні дослідження спрямовані на визначення протиракових властивостей даних речовин.

В 2017 році вчені оцінювали протипухлинний потенціал віолацеїну по відношенню до клітин раку молочної залози людини MCF-7 [52]. В ході досліджу було встановлено що віолацеїн пригнічує життєздатність клітин MCF-7 залежно від часу та дози, значення  $IC_{50}$  становило 4,5 мкМ за 24 години, 1,7 мкМ за 48 годин і 0,51 мкМ за 72 години.

*Periz* з співавторами в 2020 році дослідили властивості віолацеїну по відношенню до клітин раку шийки матки (HeLa) [53]. В результаті експериментів даний пігмент мав сильний протираковий ефект на клітини раку шийки матки (HeLa), віолацеїн демонструє високу цитотоксичний ефект при 4 мкМ, який пригнічує життєздатність клітин на 51,8 %.

В 2018 році вчені розглянули оцінили протипухлинну активність продигіозину отриманого при культивуванні *Chamaecyparis lawsoniana* HDZK-BYBS107 на клітинних ліній хоріокарциноми людини (JEG3) і раку передміхурової залози (PC3) [48]. Протиракова активність *in vitro* показала, що бактеріальний продигіозин індукує апоптоз у клітинах JEG3, виживаність клітин JEG3 становила 0,452 % при використанні 50 мкг/мл. Протиракова активність *in vivo* показала, що продигіозин значно пригнічував ріст клітин JEG3 і PC3, а інгібуюча активність залежала від дози та часу.

*Nguyen* з співавторами досліджували вплив продигіозину на чотири лінії ракових клітин, а саме A549 (карциноми легенів людини), Hep G2 (гепатоцелюлярної карциноми людини), MCF-7 (аденокарциноми молочної залози людини) і WiDr (аденокарциноми товстої кишки людини) [54]. В результаті даний пігмент продемонстрував потужну протипухлинну активність проти A549, Hep G2, MCF-7 і WiDr з значенням  $IC_{50}$  0,06, 0,04, 0,04 і 0,2 мкг/мл відповідно.

В 2022 році вчені оцінювали протипухлинні властивості продигіозину по відношенню до ліній клітин раку молочної залози людини MCF-7, раку

ротоглотки KB та раку легенів LU-1 [55]. В ході дослідів було встановлено що протігіозин має перспективи в якості протипухлинного агента через гарні результати пригнічення життєздатності даних клітин, показник  $IC_{50}$  для клітин MCF-7 становив 2 мкг/мл, для LU-1  $IC_{50} = 1,5$  мкг/мл, а у клітин карциноми (KB) при концентрації 4 мкг/мл усі клітини зменшилися та змінили форму а життєздатність досягла 40 %, в той час як при 10 мкг/мл даний показник становив 20 %.

*Sheng* з співавторами досліджували дію зеаксантину на клітини раку шлунка людини [56]. В результаті експериментів зеаксантин значно пригнічував активність клітин раку шлунка залежно від концентрації, найкращий інгібуючий ефект зеаксантин демонструю проти клітин AGS, при цьому значення  $IC_{50}$  становило 17 мкМ.

В 2024 році вчені оцінювали терапевтичні ефекти зеаксантину по відношенню до гліобластоми (GBM) [57]. В результаті експериментів було встановлено що даний пігмент може перешкоджати ангіогенезу GBM і росту пухлини шляхом зниження регуляції каскаду онкогенних сигнальних шляхів, як через інгібування ангіогенезу , так і через протипухлинний механізм прямого цитотоксичного ефекту.

## РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування

### 3.1. Характеристика продигіозину

Продигіозин - це природний червоний пігмент, що виробляється кількома видами бактерій, зокрема *Serratia marcescens*, *Pseudomonas magnesorubra* та *Vibrio psychroerythrus*. Вперше відкритий на початку 20-го століття, продигіозин привернув до себе значну увагу завдяки своєму яскравому червоному кольору і широкому спектру біологічної активності [58]. Як член родини трипіролів, продигіозин характеризується складною молекулярною структурою, яка включає три пірольні кільця, з'єднані між собою за допомогою метинових містків. Ця унікальна структура не тільки відповідає за колір пігменту, але й лежить в основі його біологічної активності [59]. Графічне зображення хімічної структури продигіозину наведено на рис. 3.1.

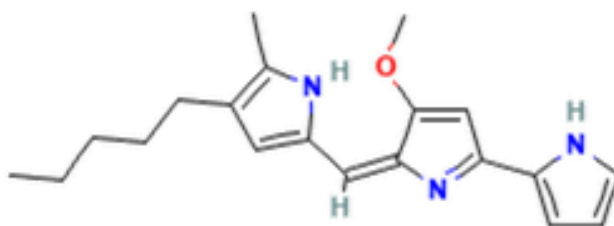


Рис. 3.1. Хімічна структура продигіозину  
Фізико-хімічні властивості продигіозину.

Молекулярна формула:  $C_{20}H_{25}N_3O$

Молекулярна маса: 323,44 г/моль.

Температура плавлення: продигіозин плавиться приблизно при  $85^{\circ}C$ .

Температура кипіння: сполука розкладається до досягнення температури кипіння, що ускладнює точне вимірювання.

					НУХТ БТЕК 02.01.21 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Тагізада Є.М.			РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Карлаш Ю.В.					26	6
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

*Температура розкладання:* продигіозин починає розкладатися при температурі вище 150 °С.

*Розчинність:* він розчинний в органічних розчинниках, таких як етанол, метанол, хлороформ і ацетон, але має погану розчинність у воді.

*Інтенсивність поглинання:* пігмент має сильне поглинання у видимому спектрі, особливо близько 535 нм, що відповідає за його інтенсивне червоне забарвлення.

*Хімічна активність:* продигіозин проявляє значну біологічну активність, включаючи антибактеріальну, протигрибкову, протималярійну та протиракову дію. Його здатність викликати апоптоз у ракових клітинах і руйнувати мембрани бактеріальних клітин представляє особливий інтерес у фармацевтичних дослідженнях [60].

*Стабільність:* продигіозин стабільний в нейтральних і слабкокислих умовах, він схильний до деградації в сильнокислих або основних умовах і при тривалому впливі світла [61].

#### *Сфери практичного застосування продигіозину.*

Унікальне поєднання властивостей продигіозину робить його цінним у різних галузях:

*Фармацевтична промисловість:* продигіозин досліджується на предмет його протиракових властивостей, причому дослідження зосереджені на його здатності індукувати апоптоз у різних ракових клітинних лініях. Крім того, його антибактеріальні та протигрибкові властивості роблять його потенційним кандидатом для розробки нових антимікробних засобів [58].

*Косметика та особиста гігієна:* завдяки своєму природному походженню та яскравому червоному кольору, продигіозин досліджується як натуральний барвник для косметики, наприклад, помади та рум'ян. Притаманні йому антимікробні властивості додають цінності його використанню в продуктах, призначених для захисту здоров'я шкіри [58].

*Харчова промисловість:* хоча продигіозин все ще досліджується, він показав потенціал як натуральний харчовий барвник. Його профіль безпеки та

біорозкладність можуть зробити його кращою альтернативою синтетичним барвникам, які в даний час використовуються в харчовій промисловості [58].

*Текстиль:* використання продигіозину як натурального текстильного барвника досліджується, зокрема, в ініціативах зі сталого розвитку моди. Його здатність давати насичений червоний колір на різних тканинах робить його привабливою екологічно чистою альтернативою синтетичним барвникам [58].

### **3.2. Огляд ринку продигіозину**

На сьогоднішній день продигіозин демонструє великий комерційний потенціал через наявність широкого спектру властивостей, даний пігмент демонструє гарні антибактеріальні, протипухлинні, протипаразитарні, противірусні та імуносупресивні властивості. Однак практичного використання даного пігменту за даними напрямками на сьогодні немає, через недостатню кількість досліджень спрямованих на вивчення даних властивостей та більш жорсткі вимоги по використанню речовин в даних напрямках.

Продигіозин також проявляє потенціал в косметичній сфері. Наявні дослідження демонструють що даний пігмент має фотозахисний потенціал проти ультрафіолетових променів. В статті [62] вчені оцінювали потенціал використання продигіозину в якості компонента сонцезахисних кремів. В ході дослідів було встановлено що продигіозин покращує значення сонцезахисного фактору захисту (SPF) комерційних кремів, покращення показника відбувалось на 65, 42 та 20 %, для кремів з показником сонцезахисного ефекту 15, 24 та 40 відповідно.

Отже, продигіозин може мати цінність в якості інгредієнту для нового асортименту сонцезахисних засобів, що використовують речовини біологічного походження, а враховуючи сучасну зростаючу тенденцію на використання натуральних продуктів виробництво даного пігменту для косметичної сфери є оптимальним варіантом.

Для визначення потреби в продигіозині в якості інгредієнту сонцезахисного крему необхідно для початку визначити, яка потреба в даних

кремах серед населення. Серед наявних статистичних даних немає інформації по кількості виготовленого або реалізованого товару даної категорії, однак даний засіб користується попитом в час відпусток коли люди подорожують в інші регіони, а також людьми які переживають за молодість своєї шкіри, так як сонцезахисний крем блокує УФ-промені які в результаті постійного впливу призводять до фотостаріння, найбільш притаманно це жінкам, тому подальші розрахунки проводитимемо по жіночому населенню України.

Так як на сьогодні немає точної статистики по кількості населення України, приймаємо данні оприлюднені в засобах масової інформації, так згідно прогнозів МВФ у 2023 році кількість населення в Україні становило 33,2 млн осіб [63]. Однак в зазначених даних не можливо встановити кількість жіночого населення, для визначення потенційної кількості жінок приймемо що серед людей які виїхали за кордон кількість жінок становить 65 % отже тоді кількість жінок які виїхали становить:

$$(40\,997\,700 - 33\,200\,000) * 0,65 = 5\,068\,505 \text{ жінок.}$$

Станом на 2022 рік кількість жінок становила 21 990 700 [64] з врахуванням кількості жінок які виїхали приблизне значення становить:

$$21\,990\,700 - 5\,068\,505 = 16\,922\,195 \text{ жінок}$$

Беручи до уваги що потреба в сонцезахисному кремні визначається для підтримання молодості шкіри в розрахунках слід обрати діапазон жінок віком від 20 до 55 років, згідно статистичних даних за 2022 рік кількість жінок в даному віковому діапазоні становив 45,8 % від загальної кількості жінок [64].

Серед визначеного приблизного значення кількості жінок встановимо яка кількість жінок входить в цільовий діапазон:

$$16\,922\,195 \times 45,8 \% = 7\,750\,365 \text{ жінок}$$

Враховуючи що не всі жінки використовують сонцезахисний крем в повсякденному житті приймемо що серед визначеної кількості жінок приблизно 5 % використовують крем для захисту від сонця:

$$7\,750\,365 \text{ жінок} \times 0,05 = 387\,518 \text{ жінок}$$

З врахуванням великої кількості сонцезахисних кремів які наявні на ринку припустимо що даний засіб використовуватиме лише 5 % жінок:

$$387\,518 \text{ жінок} \times 0,05 = 19\,375 \text{ жінок}$$

Прийmemo що розрахована кількість жінок використовуватиме крем не весь рік а лише півроку від середини весни до середини осінні коли інтенсивність сонячних променів більша, тоді кількість днів використання становитиме:  $365 / 2 = 182$  дня.

Як зазначають виробники при використанні сонцезахисного крему на обличчя необхідно наносити 1,25 мл засобу [65], приймаючи що даний засіб буде наноситись один раз на добу, впродовж визначеного діапазону використання кількість використовуваного крему становитиме:

$$1,25 \text{ г} \times 182 \text{ дні} = 227,5 \text{ мл}$$

Розрахована кількість жінок використовуватиме за рік приблизно:

$$19\,375 * 227,5 \text{ г} = 4\,407\,812,5 \text{ г}$$

Як показують дослідження внесення 4 % барвника значно збільшує показник сонцезахисного фактору захисту, отже приймаємо що виробники вноситимуть дану кількість пігменту в свої засоби тому в розрахованій кількості крему даний компонент становитиме:

$$4\,407\,812,5 \text{ г} \times 0,04 = 176\,312,5 \text{ г}$$

Отже, річна потреба в продигіозині, який виступатиме в якості компоненту для сонцезахисних кремів, становить 176 312,5 г.

### **3.3. Розрахунок річної потужності виробництва продигіозину**

Для задоволення річної потреби продигіозину з врахуванням кількості синтезованого пігменту при культивуванні *Serratia marcescens* FZSF02 який синтезує 15 420,9 мг/л [66], необхідна наступна кількість культуральної рідини:

$$176\,312,5 \text{ г} / 15,4209 \text{ г/л} = 11\,433,4 \text{ л}$$

Зважаючи на сумарні втрати цільового продукту при виділенні та очищенні (13,2 %), по завершенню виробничого біосинтезу необхідно отримати наступну кількість культуральної рідини:

$$11\,433,4 \text{ л} / (1 - 0,132) = 13\,172 \text{ л}$$

Розрахуємо кількість культуральної рідини, яку необхідно отримати за цикл ферментації. Приймаємо кількість робочих трудоднів ( $T_{рд}$ ) = 130, тоді кількість продукту на добу ( $V_d$ ) становитиме:

$$13\,172 \text{ л} / 130 = 101,33 \text{ л}$$

Розрахувавши кількість культуральної рідини за добу визначимо яку кількість культуральної рідини отримаємо за одну ферментації з врахуванням часу виробничого циклу, який складається з часу культивування (72 год) та часу затраченого на підготовку ферментера до виробничого культивування (8 год), тоді кількість продукту за цикл ( $V_{пц}$ ) буде становити:

$$V_{пц} = \frac{K_1 * V_d * T_{цф}}{24} = \frac{1,1 * 101,33 * 80}{24} = 371,5 \text{ л/цикл}$$

## РОЗДІЛ 4. Обґрунтування вибору стадій технологічного процесу

### 4.1. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів отримання продигіозину

Процес виділення та очищення продукту біотехнологічного виробництва є важливим етапом, який має вплив на вартість кінцевого продукту, тому при проектуванні біотехнологічного виробництва необхідно передбачити використання оптимального методу отримання готового продукту. На сьогоднішній день розглянувши наявні літературні дані по виділенню та очищенню продигіозину можна зазначити що процес майже однаковий для різних технологій, відмінність полягає лише в деяких методиках проведення певних етапів, тому можна зазначити що для отримання готового пігменту необхідно провести наступні дії:

Виділення біомаси

Екстракція продигіозину з біомаси

Випарювання екстракту

Повторна екстракція для видалення домішок

Концентрування

Виділення на колонці з силікагелем

Концентрування елюату

Сушіння

В результаті виконання вищеперерахованих етапів отримують готовий до використання пігмент з чистотою більше 99 % та виходом продукту 86,8 %. Розглянемо більш детально дані етапи та визначимо в який спосіб їх провести буде оптимальнішим варіантом.

					НУХТ БТЕК 02.01.21 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 4. Обґрунтування вибору стадій технологічного процесу	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Тагізада Є.М.					32	15
Перевір.		Карлаш Ю.В.						
Реценз.								
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.				Кафедра БТМ		

#### 4.1.1. Виділення біомаси

Першим етапом виділення продигіозину є виділення біомаси, так як даний пігмент синтезується всередині бактеріальної клітини і зв'язується з клітинною мембраною або цитоплазмою, однак за певних умов даний пігмент може виходити в культуральну рідину, що підтверджується обраним біологічним агентом. При культивуванні *Serratia marcescens* FZSF02 частина продигіозину виділяється в культуральну рідину та утворює гранули [66], які можна відокремити простим фільтруванням. Для виділення біомаси з гранулами продигіозину можна використати наступні методи: центрифугування та фільтрування.

Фільтрування – відокремлює біомасу від культуральної рідини шляхом пропускання суміші через фільтруюче середовище, яке затримує тверді частинки, пропускаючи рідину. Це простий і масштабований метод, але він може бути менш ефективним для дрібних частинок і може вимагати частої заміни фільтрів.

Центрифугування розділяє біомасу шляхом обертового розкручування культуральної рідини на високих швидкостях, змушуючи більш щільну біомасу осідати з суспензії під дією відцентрової сили. Цей метод є швидким і високоефективним, але він більш енергоємний і вимагає спеціалізованого обладнання.

Зважаючи на вищезазначені переваги та недоліки розглянутих методів, можна відзначити, що через невеликі об'єми культуральної рідини, доцільніше використовувати центрифугування, так як утворювані гранули пігменти можуть негативно впливати на процес фільтрування шляхом забивання фільтрувальних перегородок в результаті чого процес відбуватиметься повільно. Отже, процес виділення біомаси з гранулами продигіозину виглядатиме наступним чином, культуральну рідину подають в центрифугу де відбувається центрифугування впродовж 10 хв при 8000 об/хв, після центрифугування отриманий супернатант та осад направляють на подальші стадії виділення та очищення цільового продукту.

#### 4.1.2. Виділення продигіозину

Після центрифугування отримуємо осад який складається з бактеріальних клітин та гранулу пігменту, а також супернатант в якому також знаходиться частина пігменту, яка не утворила гранули. Для подальшого виділення пігменту дану стадію потрібно розділити на дві стадії виділення продигіозину з осаду та з супернатанту.

##### *Виділення продигіозину з бактеріальних клітин*

Процес екстракції продигіозину з бактеріальної клітини має надважливе значення, так як від даного етапу залежить подальші показники виходу продукту, тому необхідно підібрати найкращий метод руйнування клітин який дозволить зменшити втрати цільового продукту. В статі [67] порівнювали методи екстракції продигіозину з бактеріальної клітини *Serratia marcescens*, а саме розглядали екстракцію розчинниками органічними/неорганічним, гомогенізацію, теплову та ультразвукову обробки. В результаті порівняння було встановлено що найкращий показник виходу продукту характерний для ультразвукової обробки, який забезпечив 98,1 % виходу пігменту з клітини, однак даний метод підходить для лабораторних досліджень в той час як для великомасштабних виробництв даний метод є недоцільним. З врахуванням фізико-хімічних властивостей продигіозину, а саме його гідрофобності, доцільно проводити його виділення з клітини шляхом екстракції органічним розчинником, що дозволить виділити пігмент в органічну частину з якою в подальшому легше буде виділяти пігмент (наприклад при концентруванні температура кипіння метанолу значно нижча чим води), даний метод описується в патенті [68] за допомогою даної технології відбувається виділення 86,8 % продигіозину.

Отже процес виділення продигіозину виглядатиме наступним чином, отриманий осад після центрифугування поміщають в реактор та додають в 9 разів більший об'єм метанолу з внесенням хлоридної кислоти для врегулювання рівня рН до значення 3,0, ретельно перемішують впродовж 30 хв, в подальшому отриманий розчин залишають на відстоювання впродовж

добу, частину розчину в яку опав осад після відстоювання направляють на утилізацію а іншу частину в якій знаходиться пігмент направляють на подальші стадії.

#### *Виділення продигіозину з супернатанту*

Отримавши супернатант після центрифугування культуральної рідини в ньому залишають частинки продигіозину, які не агломерувались в великі гранули. Для виділення продигіозину з супернатанту використовуватиме органічний розчинник, так як раніше зазначалось що даний пігмент є гідрофобним, внесення органічного розчинника дозволить виділити його в органічну фазу, а всі водорозчинні речовини залишити в супернатанті. Розглянувши патент [68] процес екстракції продигіозину з супернатанту проводять за допомогою етилацетату, хоча наявні літературні данні демонструють що використання етилацетату для екстракції даного пігменту не є оптимальним варіантом [69], в даному випадку використання даного розчинника повністю задовольняє необхідні вимоги через його неполярність. Зазвичай при порівнянні розчинників для екстракції продигіозину розглядають варіанти екстракції з біологічної клітини, враховуючи складність даного процесу використовують полярні розчинники які через свої особливості гарно проникають в біологічну клітину та екстрагують пігмент. В даному випадку при екстракції пігменту з супернатанту використання неполярного розчинника є більш доцільним через його обмежену селективність в порівнянні з полярними розчинниками, використання етилацетату дозволить виділити неполярні та помірно полярні речовини до яких відноситься даний пігмент, а водорозчинні речовини залишити в рідині, в той час як при використанні полярного розчинника більша частина органічних молекул перейде в фазу розчинника що в подальшому потребуватиме етапів додаткової очистки.

Отже процес виділення продигіозину з супернатанту виглядатиме наступним чином, отриманий після центрифугування супернатант поміщають в реактор та додають до нього в 1,5 рази більший об'єм етилацетату та

проводять рівномірне перемішування, процес екстракції проводять 48 год, в результаті отримують розчин з двома фазами, нижню фазу (водна) зливають та залишають верхню фазу, яку направляють для подальшого очищення.

#### **4.1.3. Концентрування**

Після проведення екстракції продигіозину з осаду та супернатанту необхідно провести концентрування розчинів, так як отримані розчини складають з пігменту та великої кількості розчинників. Для проведення концентрування доцільно використовувати вакуум-випарну установку, так як розчинники мають невеликі температури кипіння і в подальшому їх можна відновити для повторного використання, що призведе до зменшення економічних витрат.

Продигіозин чутливий до окислення, яке може пошкодити пігмент, що призведе до втрати кольору та біоактивності, тому перед проведенням концентрування необхідно внести 0,05 г/л вітаміну С так як він діє як відновник і антиоксидант, який допомагає захистити продигіозин від окисного пошкодження шляхом нейтралізації вільних радикалів і активних форм кисню.

Також продигіозин за своїми властивостями є світлочутливим, тобто під впливом світла дана речовина може руйнуватись, що є небажаним, як зазначається в статті [70], біле та блакитне освітлення негативно впливає на стабільність продигіозину, в той час як червоне освітлення не демонструє такого ефекту, тому процес концентрування доцільно проводити в умовах без доступу світла, або за потреби забезпечити наявність червоного освітлення.

Отже процес концентрування виглядатиме наступним чином: до екстракту з метанолом додають 0,05 г/л вітаміну С, перемішують та поміщають в вакуум-випарну установку де проводять концентрування при пониженому тиску за температури 35 °С, до екстракту з етиацетатом також додають 0,05 г/л вітаміну С, перемішують та проводять випарювання при температурі 45 °С, усі процедури пов'язані з концентруванням проводять у темряві.

#### 4.1.4. Очищення продигіозину

Процес очищення продигіозину відбувається як описано в патенті [68] з використанням каскадної хроматографії на послідовно з'єднаних двох колонках з силікагелем шляхом градієнтного елюювання. Процес полягає в відділенні продигіозину від інших сполук на основі їх різної спорідненості до силікагелю та рухомої фази. В патенті [68] було встановлено що для отримання високої кількості чистого продигіозину необхідно використовувати декілька елюентів, а саме перший елюент це розчин петролейного ефіру, етилацетату, ацетону та хлороформу в об'ємному співвідношенні 7:2:0,5:0,5, другий елюент - петролейного ефіру, етилацетату, ацетону та хлороформу з об'ємним співвідношенням 6:3:0,5:0,5 та третій елюент - петролейного ефіру, етилацетату, ацетону та хлороформу з об'ємним співвідношенням 5:4:0,5:0,5. В результаті використання даних елюентів на виході з колонки отримують елюати різних кольорів, перший має безбарвний колір, другий – червоний, третій – рожевий, продигіозин знаходиться в елюаті червоного кольору, тому отриманий елюат червоного кольору направляють на подальші стадії очищення, а елюати іншого забарвлення на знешкодження.

Отже, процес очищення продигіозину виглядатиме наступним чином, отриманий пігмент після двох стадій концентрування об'єднують та змішують і розчиняють в невеликій кількості метанолу, отриманий розчин потім поміщають в колонку з силікагелем, додають петролейного ефіру для врівноваження двох колонок, та починають процес елюювання, поступово вносячи перший елюент, в подальшому після внесення необхідного об'єму першого елюенту, так само проводять процес для другого та третього елюентів.

Отриманий елюат червоного забарвлення необхідно сконцентрувати задля зменшення навантаження на наступний етап сушіння. Враховуючи що під час елюювання використовували суміші органічних розчинників, які мають невеликі значення температури кипіння, а також зважаючи на використання випарної установки на попередніх етапах, процес

концентрування доцільно провести в вакуум-випарній установці. Перед проведенням концентрування до елюату додають 0,025 г/л аскорбінової кислоти, перемішують та проводять процес при 45 °С без доступу світла.

#### 4.1.5. Сушіння пігменту

Отримавши концентрований розчин очищеного пігменту необхідно провести його висушування для отримання готового до реалізації продукту, процес висушування можна проводити за допомогою розпилювальної, сублімаційної сушарок та вакуум-сушильної шафи, розглянемо більш детально дані варіанти сушіння.

Сублімаційне сушіння передбачає заморожування матеріалу, після чого за допомогою низького тиску заморожена вода безпосередньо переходить з твердого стану в газоподібний. Цей процес ефективно зберігає цілісність термочутливих речовин, але є трудомістким і дорогим.

Розпилювальне сушіння перетворює рідину на дрібні краплі, які потім швидко висушуються під впливом гарячого повітря, в результаті чого утворюється порошкоподібний продукт. Це високоефективний метод, придатний для великомасштабного виробництва, хоча він може призвести до деградації термочутливих компонентів через високі температури.

Вакуумна-сушильна шафа працює за рахунок зниження тиску навколо матеріалу, що дозволяє воді випаровуватися при знижених температурах. Цей метод є більш безпечним для термолабільних речовин і заощаджує енергію, але він, як правило, повільніший і не є ідеальним для обробки великих об'ємів.

Розглянувши варіанти сушіння пігменту оптимальним варіантом буде використання вакуум-сушильної шафи через невеликий об'єм вологого продукту отриманого після концентрування та термостабільність продигіозину, використання сублімаційного способу сушіння є недоцільним через велику тривалість процесу, а розпилювальної сушарки через великі габаритні розміри апарату які недоцільні для невеликої кількості висушуваного продукту.

По завершенню висушування продукт необхідно провести подрібнення продукту для отримання однакової дисперсності продукту та стандартизації реалізованого продукту. Зважаючи на невеликі об'єми виробництва доцільно проводити подрібнення в молотковій дробарці, яка оснащена ситами на виході що дозволить провести два процес, а саме подрібнення та просіювання, за один етап.

Отже, після стадії висушування в вакуум-сишульній шафі, пігмент завантажують вручну в молоткову дробарку яка оснащена на виході ситами з діаметром отворів 50 мкм. Отриманий порошкоподібний продукт поміщають в пересувну ємність та зберігають в даній ємності до подальшого використання.

## **4.2. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях**

Підбір технологічного обладнання для стадій виділення та очищення продигіозину наведений в таблиці 4.1.

Вихідні дані:

Об'єм культуральної рідини за один цикл ферментації = 371,5 л.

Концентрація цільового продукту у КР = 15,4209 г/л

Концентрація біомаси в культуральній рідині = 5 г/л

Втрати (%) на стадіях виділення цільового продукту = 13,2 %:

$371,5 \text{ л} \times 15,4209 \text{ г/л} - 13,2 \% = 4\,972,65 \text{ г}$

**Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях виділення та очищення  
продигіозину**

№ п/п	Назва стадії (операції)	Матеріальні потоки на стадії	Кількість по стадіях			Необхідне обладнання
			Надійшло	Втрати, (Разом 13,2%)	Вийшло	
1	2	3	4	5	6	7
<b>ДР 1. Зберігання культуральної рідини</b>						
1	ДР 1.1. Зберігання культуральної рідини	Культуральна рідина	371,5 л		371,5 л	Реактор об'ємом 400 л
<b>ДР 2. Приготування допоміжних розчинів для очищення продигіозину</b>						
2	ДР 2.1. Приготування елюента I	Петролейний ефір	7,91 л			Збірник об'ємом 15 л
		Етилацетат	2,26 л			
		Ацетон	0,565 л			
		Хлороформ	0,565 л			
		Елюент I	11,3 л		11,3 л	
3	ДР 2.2. Приготування елюента II	Петролейний ефір	6,78 л			Збірник об'ємом 15 л
		Етилацетат	3,39 л			
		Ацетон	0,565 л			
		Хлороформ	0,565 л			
		Елюент II	11,3 л		11,3 л	
4	ДР 2.3. Приготування елюента III	Петролейний ефір	5,65 л			Збірник об'ємом 15 л
		Етилацетат	4,52 л			
		Ацетон	0,565 л			
		Хлороформ	0,565 л			
		Елюент III	11,3 л		11,3 л	

ТП 3. Виділення біомаси						
5	ТП 3.1 Центрифугування культуральної рідини	Культуральна рідина	371,5 л			Центрифуга періодичної дії об'ємом 440 л
		Осад	29,1 л (371,5 л * 5 / 0,15 + 2,5 / 0,15)	0,73 л (2,5 %)	28,37 л (29,1 л – 0,73 л)	
		Супернатант	342,4 л (371,5 л – 29,1 л)	8,6 л (2,5 %)	333,8 л (342,4 л – 8,6 л)	
ТП 4. Виділення продигіозину						
6	ТП 4.1. Екстракція продигіозину з осаду	Осад	28,37 л			Реактор об'ємом 300 л
		Метанол	255,33 л (28,37 * 9)			
		Хлоридна кислота	2 л			
		Розчин	285,7 л (28,37 + 2 + 255,33)			
		Водна фаза	35,7 л			
		Екстракт I	250 л	2,5 л (1 %)	247,5 л (250 л – 2,5 л)	
7	ТП 4.2. Екстракція продигіозину з супернатанту	Супернатант	333,8 л			Реактор об'ємом 1 м <sup>3</sup>
		Етилацетат	500,7 л (333,8 л * 1,5)			
		Розчин	834,5 л (333,8 + 500,7)			
		Водна фаза	384,5 л			
		Екстракт II	450 л	4,5 л (1 %)	445,5 л (450 л – 4,5 л)	

ТП 5. Концентрування екстрактів						
8	ТП 5.1. Концентрування метанольного екстракту	Екстракт I	247,5 л	-		Вакуум-випарна установка, об'ємом 500 л
		Аскорбінова кислота	12,375 г (247,5 * 0,05 г)			
		Випарений метанол	240 л			
		Концентрат продигіозину I	7,5 (247,5 - 240)	0,075 л (1 %)	7,425 л (7,5 л – 0,075 л)	
9	ТП 5.2. Концентрування етилацетатного екстракту	Екстракт II	445,5			Вакуум-випарна установка, об'ємом 500 л
		Аскорбінова кислота	22,275 г (445,5 * 0,05 г)			
		Випарений етилацетат	434 л			
		Концентрат продигіозину II	4,5 (445,5 – 441)	0,045 л (1 %)	4,455 л (4,5 л – 0,045 л)	
ТП 6. Очищення продигіозину						
10	ТП 6.1. Очищення продигіозину градієнтним елюванням	Концентрат продигіозину I	7,425 л			Реактор об'ємом 20 л
		Концентрат продигіозину II	4,455 л			
		Метанол	5,94 л ((7,425 + 4,455 л) / 2)			
		Силікагель	8,5 кг – верхня колонка 26,5 кг – нижня колонка			Хроматографічна колонка
		Елюент I	11,3 л			
		Елюент II	11,3 л			
		Елюент III	11,3 л			
		Елюат I	11,3 л			
		Елюат II	11,3 л	0,11 л (1 %)	11,19 л (11,3 л – 0,11 л)	
Елюат III	11,3 л					

11	ТП 6.2. Концентрування елюату	Елюат II	11,19 л	-		Вакуум-випарна установка
		Аскорбінова кислота	0,28 г (11,19 * 0,025 г)			
		Випарений елюент	3,49 л			
		Вологий продигіозин	7,7 (11,19 – 3,49)	0,077 л (1 %)	7,623 л (7,7 л – 0,077 л)	
<b>ТП 7. Отримання порошкоподібного продигіозину</b>						
12	ТП 7.1. Сушіння продигіозину	Вологий продигіозин	7,623 л			Вакуум-сушильна шафа об'ємом 30 л
		Висушений продигіозин	5,21 кг	0,104 кг (2 %)	5,106 кг (5,21 – 0,104)	
13	ТП 7.2. Подрібнення продигіозину	Висушений продигіозин	5,106 кг			Молоткова дробарка
		Порошкоподібний продигіозин		0,128 кг (2,5 %)	4,978 кг (5,106 – 0,128)	

### 4.3. Специфікація обладнання

Таблиця 4.2

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
P-1	Реактор	1	Реактор об'ємом 400 л, виготовлений з нержавіючої сталі, оснащений перемішуючим пристроєм та сорочкою [71]
H-2	Насос перистальтичний	1	Перистальтичний насос MP-1136-25 з продуктивністю 780 л/год [72]
Ц-3	Центрифуга	1	Центрифуга періодичної дії, об'єм завантаження 440 л, максимальна швидкість обертання 1075 об/хв, потужність двигуна 37 кВт [73]
P-4	Реактор	1	Реактор VJR300S об'ємом 300 л, виготовлений з нержавіючої сталі, оснащений перемішуючим пристроєм та сорочкою [74]
H-5 H-7 H-12 H-14 H-16 H-19 H-21	Насос відцентровий	7	Насос відцентровий 1DK-20 з продуктивністю 750 л/год [75]
P-6	Реактор	1	Реактор VJR1000S об'ємом 1 м <sup>3</sup> , виготовлений з нержавіючої сталі, оснащений перемішуючим пристроєм та сорочкою [74]
B-8	Вакуум-випарна установка	1	Вакуум-випарна установка ВВУ-500, виготовлена з нержавіючої сталі, з робочим об'ємом 500 л, габаритні розміри 2052*1360* 2400 мм [76]
P-9	Реактор	1	Реактор VJR20S об'ємом 20 л, виготовлений з нержавіючої сталі, оснащений перемішуючим пристроєм та сорочкою [74]
H-10	Насос перистальтичний	1	Перистальтичний насос AS 10 FX-47 з продуктивністю 47 л/год [77]
З-11 З-13 З-15	Збірник	3	Збірник об'ємом 15 л, виготовлений з нержавіючої сталі, оснащений перемішуючим пристроєм [78]
K-17 K-18	Колонка		Скляна хроматографічна колонка [79]
P-20	Реактор	1	Реактор об'ємом 15 л, виготовлений з нержавіючої сталі, оснащений перемішуючим пристроєм та сорочкою [80]

Закінчення табл. 4.2

ВСШ-22	Вакуум-сушильна шафа	1	Вакуум-сушильна шафа СВ-30, з об'ємом камери 30 л, максимальна температура 200 °С, габаритні розміри 300*370*300 [81].
Д-23	Молоткова дробарка	1	Молоткова дробарка ДХМ-300, з продуктивністю 200 кг/год, розмір сит 50 мкм [82].
П-24	Пересувна ємність	1	Пересувна ємність об'ємом 5 л, виготовлена з нержавіючої сталі

## РОЗДІЛ 5. Технологічні особливості отримання сонцезахисного крему з продігіозином

Отримавши очищений пігмент доцільно виробляти продукт з вмістом даного пігменту, а не продавати очищений пігмент, так як дане рішення сприяє створенню доданої вартості, збільшенню ринкових можливостей та підвищенню споживчої привабливості. Хоча продігіозин у сирому вигляді є цінною сполукою, що знаходить застосування в таких галузях, як медична та косметична промисловість, його потенціал в якості готового продукту дозволяє більш ефективно вийти на ринок.

Виробництво з очищеного пігменту сонцезахисний крем значно підвищує його економічну цінність. Пігменти в чистому вигляді часто продаються за конкурентними цінами і задовольняють вузький сегмент ринку, наприклад, постачальників інгредієнтів або науково-дослідні установи. Однак, включення продігіозину до споживчого продукту з високим попитом, наприклад, сонцезахисного крему, суттєво підвищує цінність пігменту. Сонцезахисний крем, один з ключових продуктів для догляду за шкірою з широким споживчим попитом, пропонує ширше охоплення ринку порівняно з пігментами в чистому вигляді, що позитивно впливає на рентабельність виробництва.

Більше того, створення готового продукту відповідає вимогам споживачів та очікуванням ринку. Багато кінцевих споживачів віддають перевагу готовим до використання продуктам, а не сировині, яка потребує подальшої обробки. Пропонуючи сонцезахисний крем, підприємство оминає технічні проблеми, з якими можуть зіткнутися споживачі або виробники при роботі з сирим продігіозином, позиціонуючи продукт як зручне, готове до ринку рішення.

					НУХТ БТЕК 02.01.21 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Тагізада Є.М.			РОЗДІЛ 5. Технологічні особливості отримання сонцезахисного крему з продігіозином	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Карлаш Ю.В.					47	5
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Включення продігіозину до складу сонцезахисного крему також підвищує його конкурентоспроможність, використовуючи його унікальні властивості. Потенціал продігіозину як природного пігменту з антиоксидантними та УФ-захисними властивостями перегукується зі зростаючим попитом на екологічно чисту та стійку косметику. Реалізація пігменту у складі готового продукту посилює його цінність, особливо для обізнаних у питаннях екології споживачів, а також дозволяє створити більш сильний наратив навколо інновацій та екологічності.

Як зазначлось раніше продігіозин покращує властивості сонцезахисних кремів, збільшуючи показник сонцезахисного фактору захисту (SPF), з огляду на дану інформацію, в якості сонцезахисного крему було обрано крем який наведено в патенті [83]. Дану основу було обрано завдяки своєму збалансованому складу, що забезпечує комплексний захист від ультрафіолету за допомогою декількох фільтрів, таких як етилгексилметоксикорична кислота, гомосалат і бутилметоксидибензоїлметан, які охоплюють як УФ-А, так і УФ-В спектри. Включення до складу токоферилацетату посилює антиоксидантні властивості, доповнюючи потенціал продігіозину як засобу для захисту шкіри. Крім того, етанол забезпечує легку текстуру, а диметикон і вініловий крос-полімер покращують нанесення і залишають матовий фініш. Комбінація стабілізаторів, таких як полівінілпіролідон, забезпечує однорідну текстуру, створюючи оптимальну основу для введення продігіозину без шкоди для стабільності та ефективності продукту.

Як зазначлось в статті [62], для покращення сонцезахисного фактору захисту (SPF) крему в нього бажано вносити 4 % продігіозину, враховуючи що після стадій виділення та очищення за 1 виробничий цикл отримують 4,978 кг пігменту, кзагальна кількість крему становитиме  $4,978 \text{ кг} / 0,04 = 124,45 \text{ кг}$ . Також слід зазначити що через черний колір даного пігменту, вироблений крем може мати набажане червоне забарвлення, для зміни кольору на більш приємний для споживачів (наприклад бежевий колір), можна внести зелений пігмент, серед наявних на ринку пігментів в даному випадку підійде оксид

хрому зелений, через його безпечність та наявні дозволи Управлінням з продовольства і медикаментів США (FDA) до використання даного барвника в косметиці для зовнішнього застосування, включаючи косметику, призначену для використання в області очей [84].

Обравши основу можна спрогнозувати що процес виробництва крему з продигіозином матиме наступні стадії:

1. Приготування водної фази
2. Приготування олійної фази
3. Приготування силіконової фази
4. Емульгування
5. Пакування та маркування

### **5.2. Матеріальний баланс на партію сонцезахисного крему з продигіозином**

Матеріальний баланс на партію сонцезахисного крему з продигіозином наведено в табл. 5.1.

*Таблиця 5.1*

#### **Матеріальний баланс на партію сонцезахисного крему**

<b>Завантажено за цикл</b>			<b>Одержано за цикл</b>		
<i>1. Стадія приготування водної фази</i>					
№	Компонент	кг	№	Компонент	кг
1	Етанол	53,76	1	Водна фаза	64,139
2	Полівінілпіролідон	4,182			
3	Гідроксипропілцелюлоза	0,597			
4	Продигіозин	4,978			
5	Оксид хрому зелений	0,622			
<b>Разом</b>		<b>64,139</b>	<b>Разом</b>		<b>64,139</b>

<i>2. Стадія приготування олійної фази</i>					
1	Бутилоктилсаліцилат	7,168	1	Олійна фаза	34,646
2	Дикаприлілкарбонат	2,389			
3	Токоферилацетат	1,195			
4	Етилгексилметоксикорична кислота	8,363			
5	Етилгексилсаліцилат	3,584			
6	Гомосалат	4,779			
7	Октокрилен	3,584			
8	Діетиламіно-гідроксибензоїл-гексилбензоат	1,195			
9	Бутилметоксидибензоїлметан	2,389			
<b>Разом</b>		34,646		<b>Разом</b>	34,646
<i>3. Стадія приготування силіконової фази</i>					
1	Диметикон	19,115	1	Силіконова фаза	26,283
2	Диметикон/вінілдиметиконовий кросполімер	7,168	2		
<b>Разом</b>		26,283		<b>Разом</b>	26,283
<i>4. Стадія емульгування</i>					
1	Водна фаза	64,139	1	Сонцезахисний крем	124,45
2	Олійна фаза	34,646			
3	Силіконова фаза	26,283			
4	Втрати	0,5	2	Втрати	0,62
<b>Разом</b>		125,07		<b>Разом</b>	125,07
<i>5. Стадія пакування та маркування</i>					
1	Сонцезахисний крем	124,45	1	Упакований крем	124,32
2	Туби (50 мл)	2 489			
3	Втрати	0,1	2	Втрати	0,13
<b>Разом</b>		124,45		<b>Разом</b>	124,45

### 5.3. Специфікація обладнання на партію сонцезахисного крему з продигіозином

Необхідне обладнання з врахуванням матеріального балансу для приготування партії сонцезахисного крему з продигіозином наведено в табл. 5.2.

*Таблиця 5.2*

#### Специфікація обладнання для приготування сонцезахисного крему з продигіозину

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
P-25	Реактор	1	Реактор BSF-100L об'ємом 100 л, виконаний з нержавіючої сталі, оснащений сорочкою та мішалкою, габаритні розміри 1050*690*2350 мм [85]
H-26	Насос відцентровий	1	Насос відцентровий Leo 3.0 0.75 кВт, з продуктивністю до 1,8 м <sup>3</sup> /год [86]
P-27	Реактор	1	Реактор BSF-50L об'ємом 50 л, виконаний з нержавіючої сталі, оснащений сорочкою та мішалкою, габаритні розміри 580*580*1900 мм [85]
H-28 H-30	Насос перистальтичний	2	Насос перистальтичний 253Yx, з продуктивністю до 132 л/год [87]
P-29	Реактор	1	Реактор BSF-30L об'ємом 30 л, виконаний з нержавіючої сталі, оснащений сорочкою та мішалкою, габаритні розміри 530*530*1900 мм [85]
P-31	Реактор	1	Реактор BSF-150L об'ємом 150 л, виконаний з нержавіючої сталі, оснащений сорочкою та мішалкою [85]
H-32	Насос перистальтичний	1	Насос перистальтичний 253d, з продуктивністю до 330 л/год [88]
ФПУ-33	Фасувально-пакувальна установка	1	Тубонаповнювальна машина Axomatic Axo 3600, з продуктивність по наповненню тубам 12500 туб/год, об'єм фасування від 3 до 250 мл [89].

## **РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення та очищення продигіозину**

Процес отримання продигіозину по завершенню ферментаційного синтезу передбачає проведення етапів виділення та очищення продигіозину з культуральної рідини які складаються з допоміжних етапів (зберігання культуральної рідини та приготування допоміжних розчинів для очищення продигіозину), технологічного процесу (виділення біомаси, виділення продигіозину, концентрування екстрактів, очищення продигіозину та сушіння пігменту) а також пакування та маркування очищеного пігменту. Процес виділення та очищення продигіозину продемонстровано в графічній частині курсового проекту, у вигляді апаратурної та технологічної схем.

### ***ДР 1. Зберігання культуральної рідини***

#### ***ДР 1.1. Зберігання культуральної рідини***

По завершенню виробничого біосинтезу продигіозину культуральну рідину зберігають в реакторі об'ємом 400 л (Р-1). Зберігання проводять при кімнатній температурі (21 °С) з періодичним перемішуванням (50 об/хв).

### ***ДР 2. Приготування допоміжних розчинів для очищення продигіозину***

#### ***ДР 2.1. Приготування елюента І***

На стадію очищення продигіозину (ТП 6) необхідно приготувати 11,3 л елюента І, для цього в збірник об'ємом 15 л (З-11) через лічильник вносять 7,91 л петролейного ефіру та 2,26 л етилацетату, 0,565 л ацетону та 0,565 л хлороформу відміряні за допомогою мірного циліндра. Після внесення компонентів, в збірник, вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв) для рівномірного розподілення компонентів.

					НУХТ БТЕК 02.01.21 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення та очищення продигіозину	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Тагізада С.М.					52	7
Перевір.		Карлаш Ю.В.				Кафедра БТМ		
Реценз.								
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Перемішавши розчин вимикають перемішуючи пристрій та зберігають розчин в даному збірнику до подальшого використання.

### ***ДР 2.2. Приготування елюента II***

На стадію очищення продигіозину (ТП 6) необхідно приготувати 11,3 л елюента II, для цього в збірник об'ємом 15 л (З-13) через лічильник вносять 6,78 л петролейного ефіру, 3,39 л етилацетату та 0,565 л ацетону та 0,565 л хлороформу відміряні за допомогою мірного циліндра. Після внесення компонентів, в збірник, вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв) для рівномірного розподілення компонентів. Перемішавши розчин вимикають перемішуючи пристрій та зберігають розчин в даному збірнику до подальшого використання.

### ***ДР 2.3. Приготування елюента III***

На стадію очищення продигіозину (ТП 6) необхідно приготувати 11,3 л елюента III, для цього в збірник об'ємом 15 л (З-15) через лічильник вносять 5,65 л петролейного ефіру, 4,52 л етилацетату та 0,565 л ацетону, 0,565 л хлороформу відміряні за допомогою мірного циліндра. Після внесення компонентів, в збірник, вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв) для рівномірного розподілення компонентів. Перемішавши розчин вимикають перемішуючи пристрій та зберігають розчин в даному збірнику до подальшого використання.

## ***ТП 3. Виділення біомаси***

### ***ТП 3.1. Центрифугування культуральної рідини***

Культуральну рідину (від ДР 1.1) за допомогою перистальтичного насоса (Н-2) подають в центрифугу (Ц-3) де відбувається розділення розчину на дві частини, процес центрифугування відбувається впродовж 10 хв при 8000 об/хв. В подальшому отриманий осад поміщають в реактор об'ємом 300 л (Р-4) та супернатант направляють в реактор об'ємом 1 000 л (Р-6) де відбувається зберігання до використання на подальших стадіях виділення та очищення пігменту.

#### ***ТП 4. Виділення продигіозину***

##### ***ТП 4.1. Екстракція продигіозину з осаду***

В реактор з осадом (Р-4), за допомогою лічильника вносять 253,8 л метанолу, а також за допомогою мірного циліндра вносять 2 л хлоридної кислоти, помістивши компоненти в реакторі вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв) для рівномірного розподілення компонентів впродовж 30 хв. Після перемішування розчин залишають в реакторі на відстоювання. Через 24 год відстоювання з реактора зливають нижню фазу (прозорий розчин), злитий розчин направляють на знешкодження, а отриманий забарвлений розчин зберігають в реакторі до подальшого використання.

##### ***ТП 4.2. Екстракція продигіозину з супернатанту***

В реактор з супернатантом (Р-6), за допомогою лічильника вносять 484,4 л етилацетату та вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв) для рівномірного розподілення компонентів. Перемішавши компоненти перемішуючий пристрій вимикають та залишають розчин в реакторі на відстоювання. Через 48 год відстоювання з реактора зливають нижню фазу (прозорий розчин), злитий розчин направляють на знешкодження, а отриманий забарвлений розчин зберігають в реакторі до подальшого використання.

#### ***ТП 5. Концентрування екстрактів***

##### ***ТП 5.1. Концентрування метанольного екстракту***

За допомогою технічних ваг формують наважку 12,375 г аскорбінової кислоти, яку завантажують в реактор (Р-4) з екстрактом, та вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв) для кращого розчинення антиоксиданту. В подальшому за допомогою відцентрового насоса (Н-5) отриманий розчин направляють в вакуум-випарну установку (В-8) де відбувається концентрування розчину, при пониженому тиску 0,04 МПа, 35 °С та за умови повної відсутності світла. Процес проводять до значного видалення метанолу, випарений метанол направляють на відновлення, а отриманий концентрат

відвантажують в реактор об'ємом 20 л (Р-9), де відбувається зберігання до використання на наступній стадії.

### ***ТП 5.2. Концентрування етилацетатного екстракту***

За допомогою технічних ваг формують наважку 22,275 г аскорбінової кислоти, яку завантажують в реактор (Р-6) з екстрактом, та вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв) для кращого розчинення антиоксиданту. В подальшому за допомогою відцентрового насоса (Н-7) отриманий розчин направляють в вакуум-випарну установку (В-8) де відбувається концентрування розчину, при пониженому тиску 0,01 МПа, 45 °С та за умови повної відсутності світла. Процес проводять до значного видалення етилацетату, випарений етилацетат направляють на відновлення, а отриманий концентрат відвантажують в реактор з іншою частиною концентрату (Р-9), де відбувається зберігання до використання на наступній стадії.

### ***ТП 6. Очищення продигіозину***

#### ***ТП 6.1. Очищення продигіозину градієнтним елюванням***

Для очищення продигіозину використовують дві хроматографічні колони (К-17, К-18) які з'єднані послідовно, в дані колонки вносять силікагель, в верхню колонку вносять 8,5 кг, а в нижню 26,5 кг.

В реактор з концентратами неочищеного продигіозину (Р-9) за допомогою лічильника вносять 5,94 л метанолу, вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв) для повного розчинення осаду. В подальшому даний розчин направляють в верхню колону та 5 л вносять петролейного ефір, для врівноваження двох колон. В подальшому в верхню колону поступово за допомогою відцентрових насосів (Н-12, Н-14, Н-16) подають 11,3 л елюенту I (від ДР 2.1), потім 11,3 л елюенту II (від ДР 2.2) та 11,3 л елюенту III (від ДР 2.3). Отримуваний на виході з другої колонки елюат розділяють на декілька частин в ході внесення елюентів. На початку отримуваний елюат є прозорим, даний розчин збирають та направляють на знешкодження, в подальшому під час градієнтного елювання елюат отримуваний на виході з другої колонки змінює забарвлення з прозорого на червоний, елюат червоного забарвлення

направляють в реактор об'ємом 15 л (Р-20) де відбувається зберігання до використання на наступних етапах. В подальшому як тільки елюат на виході з другої колонки змінює забарвлення з червоного на рожевий його перестають збирати та починають направляти на знешкодження.

### ***ТП 6.2. Концентрування елюату***

За допомогою технічних ваг формують наважку 0,28 г аскорбінової кислоти, яку завантажують в реактор (Р-20) з елюатом, та вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв) для кращого розчинення антиоксиданту. В подальшому за допомогою відцентрового насоса (Н-21) отриманий розчин направляють в вакуум-випарну установку (В-8) де відбувається концентрування розчину, при пониженому тиску 0,01 МПа, 45 °С та за умови повної відсутності світла. Процес проводять до значного видалення органічних розчинників, випарений розчин направляють на відновлення, а отриманий вологий осад відвантажують на наступну стадію.

### ***ТП 7. Отримання порошкоподібного продигіозину***

#### ***ТП 7.1. Сушіння продигіозину***

Отриманий вологий осад продигіозину об'ємом 7,623 л (від ТП 6.2) вручну завантажують на полицки вакуум-сушильної шафи (ВСШ-22), після завантаження усього продукту, вакуум-сушильну шафу закривають та проводять сушіння при 80 °С до вмісту вологи продукту 5 %.

#### ***ТП 7.2. Подрібнення продигіозину***

По завершенню сушіння продигіозину (від ТП 7.1), його вручну відвантажують в молоткову дробарку (Д-23) де відбувається подрібнення висушеного пігменту, подрібнення пігменту відбувається до розміру 50 мкм, що контролюється встановленими на виході дробарки ситами з відповідними отворами. Подрібнений продигіозин поміщають в пересувну ємність об'ємом 5 л, де відбувається зберігання до подальшого виокристання.

## ***ТП 8. Приготування сонцезахисного крему***

### ***ТП 8.1. Приготування водної фази***

В реактор об'ємом 100 л (P-25) через лічильник вносять 53,76 л етанолу та наважки полівінілпіролідону масою 4,182 кг та гідроксипропілцелюлози - 0,597 кг. Внівши компоненти в реактор, в ньому вмикають перемішуючий пристрій для рівномірного розподілу компонентів (100 об/хв) та нагрівають вміст реактора до 50 °С, впродовж 20 хв. Розчинивши компоненти в реактор вносять наважки продигіозину масою 4,978 кг (від ТП 7.2) та оксиду хрому зеленого - 0,622 кг, проводять перемішування до рівномірного розподілу компонентів та в подальшому отриманий розчин зберігають в даному реакторі до подальшого застосування.

### ***ТП 8.2. Приготування олійної фази***

В реактор об'ємом 40 л (P-27) через лічильник вносять 7,168 л бутилоктилсаліцилату, 2,389 л дикаприлілкарбонату та 1,195 л токоферилацетату. Внівши компоненти вміст реактора нагрівають до 65 °С та вмикають перемішуючий пристрій (100 об/хв) для рівномірного розподілу компонентів. Нагрівши та перемішавши масла, в реактор через лічильник при постійному перемішуванні вносять 8,363 л етилгексилметоксикоричнової кислоти, 3,584 л етилгексилсаліцилату, 4,779 л гомосалату, 3,584 л октокрилену, 1,195 л діетиламіно-гідроксибензоїл-гексилбензоату та вносять наважку бутилметоксидибензоїлметану масою 2,389 кг сформовану на технічних вагах. Розчинивши компоненти мішалку вмикають, та проводять зберігання отриманого розчину в даному реакторі до подальшого застосування.

### ***ТП 8.3. Приготування силіконової фази***

В реактор об'ємом 30 л (P-30) через лічильник вносять 19,115 л диметикону та наважку диметикон/вінілдиметиконовий кросполімеру масою 7,168 кг, зваженої на технічних вагах. Внівши компоненти в реактор, в ньому вмикають перемішуючий пристрій для рівномірного розподілу компонентів (100 об/хв), процес перемішування проводять при кімнатній температурі.

Отриману субстанцію зберігаю в даному реакторі до подальшого використання.

#### ***ТП 8.4. Емульгування***

В реактор об'ємом 150 л (Р-31) за допомогою відцентрового насосу (Н-26) вносять 64,139 л водної фази (*від ТП 8.1*), вміст реактора нагрівають до 50 °С, та в подальшому витримують при заданій температурі. Після нагрівання розчину в реактор за допомогою перистальтичного насосу (Н-28) при постійному перемішуванні (250 об/хв) вносять 34,646 л олійної фази (*від ТП 8.2*), після ретельного перемішування компонентів, за допомогою перистальтичного насосу (Н-30) додають 26,283 л силіконової фази (*від ТП 8.3*). Після ретельного перемішування компонентів вміст реактора охолоджують до кімнатної температури та продовжують перемішувати. Отриманий крем в подальшому зберігається в даному реакторі до подальшого використання.

#### ***ПМВ 9. Пакування та маркування продукту***

##### ***ПМВ 9.1. Пакування та маркування сонцезахисного крему***

Вироблений сонцезахисний крем (*від ТП 8.4*) розфасовується за допомогою фасувально-пакувальної машини (ФПУ-33) в пластикові туби об'ємом 50 мл. Кожна туба автоматично заповнюється кремом та потім запаюється за допомогою механізму термозапаювання. Закупорені туби маркуються із зазначенням назви продукту, концентрації активних інгредієнтів, дати виготовлення та номера серії.

Після маркування туби поміщають у вторинну картонну упаковку для додаткового захисту. Коробки маркуються з транспортними даними і групуються на палети для транспортування. Потім упакований сонцезахисний крем відправляють на склад, де він зберігається до подальшої дистрибуції.

## РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва

### 7.1. Контроль виробництва продигіозину

Очищений продигіозин перевіряють за показниками: опис, розчинність ідентифікація, втрата маси при висушуванні та кількісне визначення (табл. 7.1) [90 - 93].

Таблиця 7.1

#### Контроль якості виділеного продигіозину

<i>Показник якості</i>	<i>Нормативне значення</i>
Опис	Порошок червоного кольору, однорідний без видимих домішок.
Розчинність	Нерозчинний у воді та розчинний в етанолі, метанолі, хлороформі та ацетоні.
Ідентифікація	Час утримання розчину зразка має відповідати часу утримання <i>стандартного розчину продигіозину</i> , що використовується у випробуванні <b>Кількісне визначення.</b>
Втрата маси при висушуванні	Не більше 5 %
Кількісне визначення	Вміст продигіозину має бути в межах 99,0–100,0 %

#### Методи контролю

##### 1. Опис

Порошкоподібний продигіозин при візуальному огляді на білому фоні та при природному або постійному освітленні, повинен мати однорідний вигляду, відсутні видимі домішки, проявляти сипучість та мати стандартний червоний відтінок [90].

					НУХТ БТЕК 02.01.21 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Тагізада С.М.				Літ.	Арк.
Перевір.		Карлаш Ю.В.					Аркушів
Реценз.							59
Н. Контр.							7
Затверд.		Стабніков В.П.			РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва		Кафедра БТМ

## **2. Розчинність**

Випробування розчинності очищеного продігіозину проводять згідно ДФУ, 1.4, 5.11.

Досліджуваний зразок поміщають в 5 скляних пробірок по 5 мг. В кожну пробірку додають по 2 мл різних розчинників, а саме води, етанолу(96%), ацетону, хлороформу, метанолу та ацетону. В результаті досліджуваний зразок повинен розчинитись в пробірках з етанолом (96%), хлороформом, метанолом та ацетоном, та не розчинюватись в пробірці з водою [91].

## **3. Ідентифікація**

Для ідентифікації використовується високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ). Спочатку готують стандартний розчин продігіозину та зразок розчину досліджуваного порошку в етанолі. Потім обидва розчини подають в колонку з оберненою фазою С18, використовуючи рухоми фазу з 0,5 М фосфатного буфера (рН 2,0), метанолу та води (10:75:15 об/об). Швидкість потоку системи становить 0,8 мл/хв ідентифікацію проводять при 535 нм. Отримані результати часу утримання досліджуваного зразка порівнюють з часом утримання стандарту [90, 92].

## **4. Втрата маси при висушуванні**

Наважку досліджуваного зразка масою приблизно 1 г завантажують в попередньо висушений і зважений контейнер. Контейнер з досліджуваним продігіозином поміщають в вакуумну піч над оксидом фосфору (V) при 100°C. Сушіння проводять до досягнення постійної ваги. Після висушування проводять повторне зважування контейнеру та розраховують відсоток втрати ваги. Втрата ваги не повинна перевищувати 5% [93].

## **5. Кількісне визначення**

Кількісне визначення концентрації продігіозину проводять використовуючи ВЕРХ, описану в методі ідентифікації. Розчин досліджуваного зразка готують як в методі ідентифікації та проводять визначення при 535 нм. Отримані результати порівнюють з калібрувальною

кривою серійних розведень стандартного зразка, та розраховують концентрацію [90, 92].

## 7.2. Контроль виробництва сонцезахисного крему з продигіозину

Вироблений сонцезахисний крем з продигіозином перевіряють за наступними показниками: показник SPF, в'язкість, рН, однорідність кольору, стабільність, водостійкість та мікробіологічна чистота (табл. 7.2) [83,84,94].

Таблиця 7.2

### Контроль якості виготовленого сонцезахисного крему

<i>Показник якості</i>	<i>Нормативне значення</i>
Показник SPF	Не менше 50
В'язкість	Не менше 87,000 сП
рН	У діапазоні 5,5 і 7,5
Однорідність кольору	Значення відхилення не більше ΔЕ 2
Стабільність	Повинен зберігати свої початкові властивості після 3 місяців при 40 °С
Водостійкість	Не більше 23 %
Мікробіологічна чистота	ТАМС -10 <sup>2</sup> КУО/г крему ТУМС – 10 <sup>1</sup> КУО/г крему Відсутність в 1 г крему – <i>Staphylococcus aureus</i> та <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Однорідність	Має витримувати вимоги
Розмір часток	Не більше 50 мкм

### Методи контролю

#### 1. Визначення SPF

Для визначення показника SPF зразок сонцезахисного крему наносять на синтетичну підкладку, прозора акрилова пластина або полістирольна плівка, у кількості 2 мг/см<sup>2</sup>. Потім пластину опромінюють ультрафіолетовим світлом і вимірюють коефіцієнт пропускання ультрафіолету за допомогою УФ-спектрофотометра. Сонцезахисний фактор SPF розраховується на основі відношення пропускання ультрафіолетових променів через пластину з сонцезахисним покриттям до контрольної пластини без покриття. Чим менше пропускання ультрафіолету, тим вищий рівень захисту. Під час вимірювання

УФ-спектрів його проводять в діапазоні довжин хвиль 290-400 нм [94]. Показник SPF має бути не менше 50.

## **2. Випробування на в'язкість**

Вимірювання в'язкості проводять за допомогою віскозиметра *Brookfield* при контрольованій температурі 25 °С. Зразок сонцезахисного крему об'ємом 100 мл поміщається в контейнер для зразків, а стрижень опускається в крем. В подальшому вмикають прилад та вимірюють в'язкість при швидкості обертання 6 об/хв. В'язкість досліджуваного зразка повинна бути не менше 87,000 сП [83].

## **3. Визначення рН**

Для визначення рівня рН сонцезахисного крему використовують цифровий рН-метр. Зразок сонцезахисного крему вагою 10 г змішують з 50 мл дистильованої води і перемішують. Перед використанням рН-метр калібрують, і безпосередньо вимірюють рН суспензії. Отримане значення рН досліджуваного крему повинно бути в діапазоні 5,5 і 7,5 [83].

## **4. Однорідність кольору**

Однорідність кольору вимірюється за допомогою колориметра або спектрофотометра. Невеликий зразок сонцезахисного крему наносять на стандартну білу підкладку. Потім проводять вимірювання кольору сонцезахисного крему у діапазоні видимого спектру (400-700 нм). Отримані результати порівнюються зі стандартним контрольним зразком, та розраховують значення відхилення, яке не повинно перевищувати значення  $\Delta E$  2.

## **5. Стабільність**

Стабільність сонцезахисного крему визначають шляхом зберігання зразків крему за підвищеної температури (40°C) протягом 3 місяців, після чого оцінюють зовнішній вигляд, в'язкість та SPF. Досліджуваний зразок також піддають циклам заморожування-розморожування для імітації зберігання в екстремальних умовах. В подальшому проводять повторне визначення

перлічених раніше параметрів, та визначають наявність будь-яких значних зміни в досліджуваних параметрах. Досліджуваний зразок повинен зберігати свої початкові властивості без значної деградації.

## **6. Водостійкість**

Водостійкість сонцезахисного крему оцінюється шляхом нанесення 1,3 мг/см<sup>2</sup> зразка сонцезахисного крему на пластину з ПММА, забезпечуючи рівномірний розподіл. Зразок залишають на 30 секунд, потім сушать у темному приміщенні протягом 15 хвилин. До занурення отриману пластину поміщають в спектрофотометр та вимірюють показник SPF, потім пластину двічі занурюють у склянку, наповнену водою, перемішуючи її магнітною мішалкою протягом 20 хвилин. Після занурення пластину сушать протягом 2 хвилин у темному приміщенні та знову вимірюють показник SPF. Різниця значень SPF до і після занурення повинна бути не більше 23 % [83].

## **7. Мікробіологічна чистота**

Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) – не більше 10<sup>2</sup> КУО/г крему. Загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) – не більше 10<sup>1</sup> КУО/г крему. Відсутність в 1 г крему *Staphylococcus aureus* та *Pseudomonas aeruginosa*. Випробування проводять згідно з ДФУ, 2.6.12, 2.6.13 та 5.1.4. використовуючи метод глибинного висівання.

10 г крему переносять у стерильний флакон та доводять до об'єму 100 мл стерильним буферним розчином з натрію хлоридом та пептоном рН 7.0, з додаванням полісорбату-80 в кількості 30 г/л закривають стерильною пробкою та ретельно перемішують. Отриману пробу переносять на водяну баню та витримують при температурі 40±1 °С протягом 30±5 хв. Отримують суспензію крему у розведенні 1:10, яка містить 1 г крему в 10 мл розчинника.

Для визначення загального числа аеробних мікроорганізмів (ТАМС) та загального числа дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) використовують метод глибинного висівання. По 1 мл отриманої суспензії вносять у чотири чашки Петрі діаметром 9 см (по 2 на кожне середовище). Потім в кожну чашку вносять по 15-20 мл розплавленого та охолодженого до температури 45 °С

соєво-казеїнового агару (для визначення ТАМС) або Сабуро-декстрозного агару (для визначення ТУМС). При використанні чашок Петрі більшого діаметра відповідно збільшують кількість живильного середовища. Середовища із зразком перемішують, погойдуючи чашки та залишають до повного охолодження. Чашки з соєво-казеїновим агаром інкубують при температурі від 30 °С до 35 °С протягом від 3 до 5 діб, а чашки з Сабуро-декстрозним агаром – при температурі від 20 °С до 25 °С протягом від 5 до 7 діб.

Для визначення наявності *Staphylococcus aureus* та *Pseudomonas aeruginosa* 10 мл випробуваного зразку переносять в 100 мл соєво-казеїнового бульйону, перемішують та витримують в інкубаторі при температурі від 30 °С до 35 °С від 18 до 24 год.

Після завершення терміну інкубації флакон ретельно перемішують та проводять пересівання на поверхню манітно-сольового агару для виявлення *Staphylococcus aureus* та цетримідного агару для виявлення *Pseudomonas aeruginosa* (використовують по 2 чашки на кожне середовище). Посіви витримують в інкубаторі протягом 18-72 годин при температурі від 30 °С до 35 °С [84].

### **8.Однорідність**

Чотири проби препарату по 20–30 мг кожна поміщають по дві проби на предметне скло, накривають іншим предметним склом і міцно притискають до утворення плям діаметром близько 2 см. При розгляді одержаних проб неозброєним оком (на відстані близько 30 см від очей) у всіх чотирьох пробах не мають виявлятися видимі частки, сторонні включення і ознаки фізичної нестабільності: агрегація і коалесценція часток, коагуляція.

### **9.Розмір часток**

0.02 г препарату поміщають на предметне скло, накривають покривним склом розміром 15×15 мм, рівномірно розподіляючи наважку препарату під покривним склом і фіксуючи шляхом слабого натиску. Вимірювання проводиться на мікроскопі Nikon SMZ 25 Type 104, або аналогічному.

Підготовлений зразок поміщають в поле зору мікроскопу. Під час дослідження потрібно проаналізувати не менше 1000 часток, тобто кожний зразок аналізують в трьох полях мікроскопу з Zoom 9. Визначення проводять в п'яти повторах (зразки з п'яти різних туб). В кожному з 15 полів вимірюють не менше 10 часток.

### 7.3. Карта постадійного контролю

Карта постадійного контролю виділення та очищення продігіозину представлена в табл. 7.3.

Таблиця 7.3

#### Карта постадійного контролю одержання продігіозину

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю та показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та відбору проб	Нормативні значення показника
1	2	3	4	5
<b>ДР 1. Зберігання культуральної рідини</b>				
Кт 1.1. Зберігання культуральної рідини	Культуральна рідина, температура	Термометр	Температура контролюється автоматично	T = 21 °C
<b>ТП 2. Приготування допоміжних розчинів для очищення продігіозину</b>				
Кт 2.1. Приготування елюента I	Елюент I. Температура, частота обертання	Термометр, тахометр	Температура та частота обертання контролюється під час приготування елюента I	T = 20 °C, n = 50 об/хв
Кт 2.2. Приготування елюента II	Елюент II. Температура, частота обертання	Термометр, тахометр	Температура та частота обертання контролюється під час приготування елюента II	T = 20 °C, n = 50 об/хв
Кт 2.3. Приготування елюента III	Елюент III. Температура, частота обертання	Термометр, тахометр	Температура та частота обертання контролюється під час приготування елюента III	T = 20 °C, n = 50 об/хв

<b>ТП 3. Виділення біомаси</b>				
Кт 3.1. Центрифугування культуральної рідини	Культуральна рідина. Час, частота обертання	Годинник, тахометр,	Час та частота обертання контролюються під час процесу центрифугування	t = 10 хв, n = 8000 об/хв
<b>ТП 4. Виділення продигіозину</b>				
Кт, Кх 4.1. Екстракція продигіозину з осаду	Осад. рН, температура, час, частота обертання	Датчик рН, термометр, тахометр, годинник	рН, температура, час та частота обертання контролюється під час процесу екстракції	рН = 3,0, t = 30 хв, n = 50 об/хв, t = 24 год
Кт 4.2. Екстракція продигіозину з супернатанту	Супернатант. Температура, частота обертання, час	Тахометр, термометр, годинник	Температура, частота обертання та час контролюється під час процесу екстракції	T = 20 °С, n = 50 об/хв, t = 48 год
<b>ТП 5. Концентрування екстрактів</b>				
Кт 5.1. Концентрування метанольного екстракту	Екстракт І. Частота обертання, температура, тиск	Тахометр, термометр, манометр	Частота обертання, температура та тиск контролюється під час процесу концентрування	n = 50 об/хв, T = 35 °С, P = 0,04 МПа
Кт 5.2. Концентрування етилацетатного екстракту	Екстракт ІІ. Частота обертання, температура, тиск	Тахометр, термометр, манометр	Частота обертання, температура та тиск контролюється під час процесу концентрування	n = 50 об/хв, T = 45 °С, P = 0,01 МПа
<b>ТП 6. Очищення продигіозину</b>				
Кт 6.2. Концентрування елюату	Елюат ІІ. Частота обертання, температура, тиск	Тахометр, термометр, манометр	Частота обертання, температура та тиск контролюється автоматично під час процесу концентрування	n = 50 об/хв, T = 45 °С, P = 0,01 МПа

<b>ТП 7. Отримання порошкоподібного продигіозину</b>				
Кт 7.1. Сушіння продигіозину	Продигіозин. Температура, вологість	Термометр, вологомір	Температура контролюється під час процесу сушіння, вологість перевіряють після процесу	T = 80 °C, W = 1%
Кт 7.2. Подрібнення продигіозину	Висушений продигіозин. Розмір часток		Під час процесу подрібнення та після нього	d <sub>пор</sub> = 50 мкм
<b>ТП 8.</b>				
Кт 8.1. Приготування водної фази	Водна фаза, Температура, частота обертання, час	Термометр, тахометр, годинник	температура, час та частота обертання контролюється під час процесу	t = 20 хв, n = 100 об/хв, T = 50 °C
Кт 8.2. Приготування олійної фази	Олійна фаза, Температура, частота обертання, час	Термометр, тахометр, годинник	температура, час та частота обертання контролюється під час процесу	t = 20 хв, n = 100 об/хв, T = 65 °C
Кт 8.3. Приготування силіконової фази	Силіконова фаза, Частота обертання, час	Тахометр, годинник	час та частота обертання контролюється під час процесу	t = 20 хв, n = 100 об/хв,
Кт 8.4. Емульгування	Сонцезахисний крем, Температура, частота обертання, час	Термометр, тахометр, годинник	температура, час та частота обертання контролюється під час процесу	t = 20 хв, n = 100 об/хв, T = 50 °C
<b>ПМВ 9. Пакування та маркування продукту</b>				
Кт 9.1. Пакування та маркування сонцезахисного крему	Сонцезахисний крем, вага, правильність маркування.	Ваги	Дозування контролюється під час фасування. Точність маркування контролюється після нанесення маркування.	Відсутність механічних пошкоджень Точність дозування 40 мл Точність маркування

## РОЗДІЛ 8. Проект заявки на корисну модель. Сонцезахисний крем на основі бактеріального пігменту продигіозину

### 8.1. Галузь і застосування корисної моделі

Винахід належить до галузі дерматологічних продуктів і косметології, зокрема до розробки сонцезахисних кремів, призначених для захисту шкіри людини від ультрафіолетового (УФ) випромінювання. Він стосується створення інноваційного сонцезахисного крему, який використовує природний бактеріальний пігмент продигіозин для підвищення захисту від УФ-променів, забезпечення антиоксидантних властивостей та антимікробної активності[95].

Сучасний ринок сонцезахисних засобів переважно складається з продуктів, що містять хімічні або фізичні фільтри. Хімічні сонцезахисні креми використовують органічні сполуки, такі як пара-амінобензойна кислота та оксибензон, які поглинають УФ-випромінювання. Проте дослідження показали, що близько 60% цих хімічних речовин можуть проникати через шкіру та потрапляти в кровообіг, що може призводити до гормональних дисбалансів та алергічних реакцій. Фізичні сонцезахисні креми містять неорганічні сполуки, такі як оксид цинку та діоксид титану, які відбивають або розсіюють УФ-промені. Однак наночастинки цих сполук можуть спричиняти окислювальний стрес та генотоксичність[95, 96, 97].

### 8.2. Відомі аналоги та їх основні недоліки

**Аналог 1:** Сонцезахисні креми з використанням бактеріального пігменту віолацеїну.

Відомі спроби використання віолацеїну, пігменту, отриманого з бактерії *Chromobacterium violaceum*, у складі сонцезахисних кремів. Віолацеїн має здатність поглинати УФ-випромінювання та проявляє антиоксидантні й

					НУХТ БТЕК 02.01.21 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Тагізада С.М.			РОЗДІЛ 8. Проект заявки на корисну модель. Сонцезахисний крем на основі бактеріального пігменту продигіозину	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Карлаш Ю.В.					66	7
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

антимікробні властивості . Додавання 4% віолацеїну до сонцезахисних кремів підвищує SPF на 10–22%, залежно від базового SPF крему. Однак ефективність підвищення SPF менша, ніж при використанні продигіозину.

Недоліки: Менше підвищення SPF (10–22% для віолацеїну проти 20–65% для продигіозину). Обмежена антимікробна активність: віолацеїн ефективний проти *Staphylococcus aureus* (IC50 6,99±0,146 μM), але не ефективний проти *Escherichia coli* [95].

**Аналог 2:** Традиційні сонцезахисні креми, що містять хімічні УФ-фільтри, такі як оксибензон та авобензон. Ці сполуки поглинають УФ-випромінювання, але можуть проникати через шкіру та потрапляти в системний кровообіг, викликаючи потенційні гормональні порушення та алергічні реакції. Дослідження показують, що оксибензон може абсорбуватися шкірою до 60% після нанесення. Крім того, оксибензон може спричиняти утворення реактивних форм кисню в шкірі під впливом УФ-променів, що призводить до окислювального стресу .

Недоліки: проникнення в кровообіг: хімічні сполуки, такі як оксибензон і авобензон, можуть абсорбуватися шкірою та проникати в системний кровообіг, що може спричиняти потенційні гормональні порушення. Алергічні реакції: деякі люди можуть мати алергію на хімічні компоненти цих засобів, що може викликати подразнення шкіри. Окислювальний стрес: оксибензон під впливом УФ-променів може спричиняти утворення реактивних форм кисню, що призводить до окислювального стресу і може пошкодити клітини шкіри. [98, 99].

### **8.3. Мета та сутність винаходу**

Метою винаходу є створення сонцезахисного крему, який забезпечує ефективний захист від УФ-випромінювання з підвищеним SPF, має антиоксидантні та антимікробні властивості, використовує натуральні компоненти для мінімізації ризику негативних побічних ефектів та відповідає сучасним вимогам безпеки й ефективності косметичних продуктів.

Запропонований сонцезахисний крем містить 4% бактеріального пігменту продигіозину, отриманого з культури бактерії *Serratia marcescens*, який ефективно поглинає УФ-випромінювання в діапазоні 290–320 нм (UVB-діапазон), сприяючи підвищенню SPF крему на 20–65% залежно від базового SPF; має антиоксидантну активність приблизно 30% від активності аскорбінової кислоти, допомагаючи нейтралізувати реактивні форми кисню та зменшити окислювальний стрес; та ефективно інгібує ріст патогенних бактерій *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli* з IC50 значеннями  $0,68 \pm 0,06$   $\mu\text{M}$  та  $0,53 \pm 0,03$   $\mu\text{M}$  відповідно, що дозволяє поєднати ефективний захист від УФ-випромінювання з додатковими корисними властивостями для шкіри.

#### 8.4. Детальний опис способу виготовлення

Сонцезахисний крем виготовляється на основі комбінації натуральних інгредієнтів та продигіозину. До складу крему входять:

- **Етилгексилметоксикорична кислота: 6.72%** — сонцезахисний фільтр, що забезпечує поглинання УФ-В променів.
- **Етилгексил саліцилат: 2.88%** — органічний УФ-фільтр з додатковою здатністю до зволоження шкіри.
- **Гомосалат: 3.84%** — сонцезахисний фільтр для захисту від УФ-променів, забезпечує стабільність формули.
- **Октокрилен: 2.88%** — органічний УФ-фільтр, що забезпечує стійкість до води..
- **Діетиламіно-гідроксибензоїл-гексилбензоат: 0.96%** — ефективний УФ-А фільтр для захисту від довгохвильових УФ-променів..
- **Бутилметоксибензоїлметан: 1.92%** — сонцезахисний компонент, що забезпечує захист від УФ-А променів..
- **Токоферилацетат: 0.96%** — потужний антиоксидант, що захищає шкіру від вільних радикалів..
- **Етанол: 43.20%** — розчинник, який сприяє швидкому висиханню крему та забезпечує легку текстуру.

- **Полівінілпіролідон: 3,36%** — загущувач, який забезпечує стійкість та однорідність текстури крему..
- **Гідроксипропілцелюлоза: 0.48%** — полімерний загущувач, що забезпечує однорідність текстури крему.
- **Диметикон: 15.36%** — забезпечує м'якість і рівномірне нанесення, утворюючи захисну плівку..
- **Диметикон/Вінілдиметиконовий кроссполімер: 5.76%** — покращує текстуру крему, забезпечує матовий ефект..
- **Продигіозин: 4 %** — активний інгредієнт, що забезпечує поглинання УФ-променів, антиоксидантну та антимікробну активність..
- **Оксид хрому зелений: 0,5%** — пігмент, що додає зелений відтінок, також сприяє нейтралізації почервоніння шкіри.

### **Методика виготовлення крему:**

#### **1. Підготовка водної фази:**

- Беруть зазначену кількість етанолу (43.2%) та поміщають у чистий, сухий реактор.
- Додають загущувачі: полівінілпіролідон (3.36%) та гідроксипропілцелюлозу (0.48%). Суміш перемішують до повного розчинення інгредієнтів.
- Підігрівають суміш до 40–50°C при постійному перемішуванні, доки загущувачі повністю не розчиняться.

#### **2. Підготовка олійної фази:**

- У другий реактор додають зазначену кількість масел: бутилоктилсаліцилат (5.76%), дикаприлілкарбонат (1.92%) та токоферилацетат (0.96%).
- Повільно додають органічні сонцезахисні компоненти: етилгексилметоксикоричну кислоту (6.72%), етилгексилсаліцилат (2.88%), гомосалат (3.84%), октокрилен (2.88%), діетиламіно-

гідроксибензоїл-гексилбензоат (0.96%) і  
бутилметоксидибензоїлметан (1.92%).

- Підігрівають суміш до 60–65°C для рівномірного змішування.

### 3. Підготовка силіконової фази:

- У третьому реакторі змішують силікони: диметикон (15.36%) та диметикон/вінілдиметиконовий кроссполімер (5.76%).
- Перемішують за кімнатної температури до утворення однорідної маси.

### 4. Додавання пігментів:

- У ретельно змішану водну фазу поступово введіть продигіозин (4%) і оксид хрому зелений (0.5%)
- Перемішуйте на високошвидкісній мішалці до однорідного розподілу пігментів.

### 5. Емульгування:

- Повільно додають олійну фазу до водної фази при постійному перемішуванні (600–800 об/хв).
- Підтримують температуру близько 50°C, щоб забезпечити стабільну емульсію. Після додавання олійної фази, додають силіконову фазу та продовжують перемішування.

### 6. Охолодження:

- Після отримання стабільної емульсії поступово знижують температуру до кімнатної..
- Перемішують на низькій швидкості для уникнення утворення бульбашок.

## 8.5. Властивості та переваги винаходу

Запропонований сонцезахисний крем має ряд визначних властивостей та переваг, що роблять його інноваційним та ефективним засобом захисту шкіри від ультрафіолетового випромінювання. Додавання 4% бактеріального пігменту продигіозину значно підвищує сонцезахисний фактор (SPF) крему на 20–65%, забезпечуючи ефективний захист від UVB-випромінювання. Це

дозволяє крему ефективно попереджати пошкодження шкіри, викликані сонячними опіками та довготривалим впливом УФ-променів.

Крім того, крем володіє потужною антиоксидантною активністю, яка становить приблизно 30% від активності аскорбінової кислоти. Це сприяє нейтралізації вільних радикалів, що утворюються в шкірі під впливом УФ-випромінювання, зменшує окислювальний стрес та запобігає передчасному старінню шкіри. Антиоксидантні властивості продигіозину допомагають захистити клітинні мембрани та ДНК від пошкоджень, що підвищує загальну стійкість шкіри до негативних зовнішніх факторів.

Важливою перевагою крему є його антимікробна дія. Продигіозин ефективно інгібує ріст патогенних бактерій, таких як *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli*, що запобігає розвитку шкірних інфекцій та підтримує здоровий мікробіом шкіри. Це особливо актуально для людей з чутливою шкірою або схильністю до акне та інших дерматологічних проблем.

Використання природного бактеріального пігменту та відсутність шкідливих хімічних фільтрів робить крем безпечним та натуральним засобом догляду за шкірою. Це знижує ризик алергічних реакцій та негативних побічних ефектів, часто пов'язаних з використанням традиційних хімічних УФ-фільтрів. Крем підходить для використання навіть на чутливій шкірі та може бути рекомендований для дітей.

Додатково, завдяки включенню до складу крему натуральних екстрактів лемонграсу та огірка, а також зволожуючих компонентів, засіб сприяє зволоженню, заспокоєнню та відновленню шкіри. Це покращує загальний стан шкіри, робить її більш гладкою та еластичною, забезпечує комфортні відчуття при нанесенні та використанні крему. Комбінація цих властивостей робить запропонований сонцезахисний крем ефективним, безпечним та корисним засобом для щоденного використання, що відповідає сучасним вимогам до косметичних продуктів.

## ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Сонцезахисний крем шляхом додавання бактеріального пігменту, який відрізняється тим, що як активний інгредієнт використовують продигіозин у концентрації 4% мас., отриманий з культури бактерії *Serratia marcescens*, який додають до базової емульсії, що складається з очищеної води, емульгуючого воску, натуральних олій, гліцерину, лецитину та антиоксидантів, з подальшим перемішуванням та охолодженням для отримання однорідного крему, що забезпечує підвищення сонцезахисного фактора (SPF) на 20–65%, має антиоксидантну активність на рівні 30% від аскорбінової кислоти та проявляє антимікробну дію проти *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli*, забезпечуючи ефективний захист шкіри від ультрафіолетового випромінювання та покращення її здоров'я.

### РЕФЕРАТ

#### Сонцезахисний крем на основі бактеріального пігменту продигіозину

Сонцезахисний крем, що містить 4% бактеріального пігменту продигіозину, який відрізняється тим, що як активний інгредієнт використовується продигіозин, отриманий з культури бактерії *Serratia marcescens*, який додається до базової емульсії, що складається з очищеної води, емульгуючого воску, натуральних олій, гліцерину та лецитину, з попереднім розчиненням продигіозину в невеликій кількості етанолу, з подальшим перемішуванням та охолодженням для отримання однорідного крему, що забезпечує підвищений сонцезахисний фактор (SPF) на 20–65%, має антиоксидантну активність на рівні 30% від аскорбінової кислоти та проявляє антимікробну дію проти *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli*, забезпечуючи ефективний захист шкіри від ультрафіолетового випромінювання та покращення її здоров'я.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ardila-Leal, L. D., Poutou-Piñales, R. A., Pedroza-Rodríguez, A. M., & Quevedo-Hidalgo, B. E. (2021). A brief history of colour, the environmental impact of synthetic dyes and removal by using laccases. *Molecules*, 26(13), 3813.
2. Dave, S., Das, J., Varshney, B., & Sharma, V. P. (2022). Dyes and pigments: Interventions and how safe and sustainable are colors of life!!! In *Trends and Contemporary Technologies for Photocatalytic Degradation of Dyes* (pp. 1-20). Cham: Springer International Publishing.
3. Celedón, R. S., & Díaz, L. B. (2021). Natural pigments of bacterial origin and their possible biomedical applications. *Microorganisms*, 9(4), 739.
4. Islan, G. A., Rodenak-Kladniew, B., Noacco, N., Duran, N., & Castro, G. R. (2022). Prodigiosin: A promising biomolecule with many potential biomedical applications. *Bioengineered*, 13(6), 14227-14258.
5. Darshan, N., & Manonmani, H. K. (2015). Prodigiosin and its potential applications. *Journal of food science and technology*, 52, 5393-5407.
6. Paillière-Jiménez M. E., Stincone P., Brandelli A. Natural Pigments of Microbial Origin. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2020, 4. doi:10.3389/fsufs.2020.590439
7. Venil C. K., Dufossé L., Renuka Devi P. Bacterial Pigments: Sustainable Compounds With Market Potential for Pharma and Food Industry. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2020, 4. doi:10.3389/fsufs.2020.00100
8. Cauz A. C. G., Carretero G. P. B., Saraiva G. K. V., Park P., Mortara L., Cuccovia I. M. Violacein Targets the Cytoplasmic Membrane of Bacteria. *ACS Infectious Diseases*. 2019, 5(4), 539–549. doi:10.1021/acsinfecdis.8b00245
9. Sun H., Zhao D., Xiong B., Zhang C., Bi C. Engineering *Corynebacterium glutamicum* for violacein hyper production. *Microbial Cell Factories*. 2016, 15(1). doi:10.1186/s12934-016-0545-0
10. Zhou Y., Fang M.-Y., Li G., Zhang C., Xing X.-H. Enhanced Production of Crude Violacein from Glucose in *Escherichia coli* by Overexpression

of Rate-Limiting Key Enzyme(S) Involved in Violacein Biosynthesis. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2018 doi:10.1007/s12010-018-2787-2

11. Alem D., Marizcurrena J. J., Saravia V., Davyt D., Martinez-Lopez W. Production and antiproliferative effect of violacein, a purple pigment produced by an Antarctic bacterial isolate. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2020, 36(8). doi:10.1007/s11274-020-02893-4

12. Gohil N., Bhattacharjee G., Gayke M., Narode H. Enhanced production of violacein by *Chromobacterium violaceum* using agro-industrial waste soybean meal. *Journal of applied microbiology*. 2022, 132(2), 1121–1133. <https://doi.org/10.1111/jam.15277>

13. Yumusak C., Prochazkova A. J., Apaydin D. H. Indigoidine – Biosynthesized organic semiconductor. *Dyes and Pigments*. 2019, 107768. doi:10.1016/j.dyepig.2019.107768

14. Yu D., Xu F., Valiente J., Wang S. An indigoidine biosynthetic gene cluster from *Streptomyces chromofuscus* ATCC 49982 contains an unusual *IndB* homologue. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 2012, 40(1), 159–168. doi:10.1007/s10295-012-1207-9

15. Xu F., Gage D., Zhan J. Efficient production of indigoidine in *Escherichia coli*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 2015, 42(8), 1149–1155. doi:10.1007/s10295-015-1642-5

16. Banerjee D., Eng T., Lau A. K., Sasaki Y. Genome-scale metabolic rewiring improves titers rates and yields of the non-native product indigoidine at scale. *Nature Communications*. 2020, 11(1). doi:10.1038/s41467-020-19171-4

17. Ghiffary M. R., Prabowo C. P. S., Sharma K. High-Level Production of the Natural Blue Pigment Indigoidine from Metabolically Engineered *Corynebacterium glutamicum* for Sustainable Fabric Dyes. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2021, 9(19), 6613–6622. doi:10.1021/acssuschemeng.0c09341

18. Darshan N., Manonmani H. K. Prodigiosin and its potential applications. *Journal of Food Science and Technology*. 2015, 52(9), 5393–5407. doi:10.1007/s13197-015-1740-4
19. Kurbanoglu E. B., Ozdal M., Ozdal O. G., Algur O. F. Enhanced production of prodigiosin by *Serratia marcescens* MO-1 using ram horn peptone. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2015, 46(2), 631–637. doi:10.1590/s1517-838246246220131143
20. Xia Y., Wang G., Lin X., Song X., Ai L. Solid-state fermentation with *Serratia marcescens* Xd-1 enhanced production of prodigiosin by using bagasse as an inertia matrix. *Annals of Microbiology*. 2016, 66(3), 1239–1247. doi:10.1007/s13213-016-1208-4
21. Domröse A., Klein A. S., Hage-Hülsmann J., Thies S., Svensson V., Classen T., Loeschke A. Efficient recombinant production of prodigiosin in *Pseudomonas putida*. *Frontiers in Microbiology*. 2015, 6. doi:10.3389/fmicb.2015.00972
22. Nguyen V. B., Chen S.-P., Nguyen T. H., Nguyen M. T., Tran T. T. T., Doan C. T., Wang S.-L. Novel Efficient Bioprocessing of Marine Chitins into Active Anticancer Prodigiosin. *Marine Drugs*. 2019, 18(1), 15. doi:10.3390/md18010015
23. Sumathi C., MohanaPriya D., Swarnalatha S., Dinesh M. G., Sekaran G. Production of Prodigiosin Using Tannery Fleshing and Evaluating Its Pharmacological Effects. *The Scientific World Journal*. 2014, 2014, 1–8. doi:10.1155/2014/290327
24. Lin C., Jia X., Fang Y., Chen L., Zhang H. Enhanced production of prodigiosin by *Serratia marcescens* FZSF02 in the form of pigment pellets. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2019. doi:10.1016/j.ejbt.2019.04.007
25. Bhagwat A., Padalia U. Optimization of prodigiosin biosynthesis by *Serratia marcescens* using unconventional bioresources. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2020, 18(1). doi:10.1186/s43141-020-00045-7
26. Aruldass C. A., Venil C. K., Zakaria Z. A., Ahmad W. A. Brown sugar as a low-cost medium for the production of prodigiosin by locally isolated *Serratia*

*marcescens* UTM1. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2014, 95, 19–24. doi:10.1016/j.ibiod.2014.04.006

27. Cook T. B., Jacobson T. B., Venkataraman M. V., Hofstetter H., Amador-Noguez D., Thomas M. G., Pfleger B. F. Stepwise genetic engineering of *Pseudomonas putida* enables robust heterologous production of prodigiosin and glidobactin A. *Metabolic Engineering*. 2021, 67, 112–124. doi:10.1016/j.ymben.2021.06.004

28. Abdelhakim Bouyahya, Nasreddine El Omari, Meryem Hakkur. Sources, health benefits, and biological properties of zeaxanthin, *Trends in Food Science & Technology*. 2021, 118, 519-538. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.10.017>.

29. Li X.-R., Tian G.-Q., Shen H.-J., Liu J.-Z. Metabolic engineering of *Escherichia coli* to produce zeaxanthin. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 2014, 42(4), 627–636. doi:10.1007/s10295-014-1565-6

30. Shen H.-J., Cheng B.-Y., Zhang Y.-M., Tang L., Li Z. Dynamic control of the mevalonate pathway expression for improved zeaxanthin production in *Escherichia coli* and comparative proteome analysis. *Metabolic Engineering*. 2016, 38, 180–190. doi:10.1016/j.ymben.2016.07.012

31. Joshi C., Singhal R. S. Modelling and optimization of zeaxanthin production by *Paracoccus zeaxanthinifaciens* ATCC 21588 using hybrid genetic algorithm techniques. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2016, 8, 228–235. doi:10.1016/j.bcab.2016.10.004

32. Joshi C., Singhal R. S. Zeaxanthin production by *Paracoccus zeaxanthinifaciens* ATCC 21588 in a lab-scale bubble column reactor: Artificial intelligence modelling for determination of optimal operational parameters and energy requirements. *Korean Journal of Chemical Engineering*. 2017, 35(1), 195–203. doi:10.1007/s11814-017-0253-4

33. Vila E., Hornero-Méndez D., Lareo C., Saravia V. Biotechnological production of zeaxanthin by an Antarctic *Flavobacterium*: Evaluation of culture

conditions. *Journal of Biotechnology*. 2020, 319, 54–60. doi:10.1016/j.jbiotec.2020.05.014

34. Rebelo B. A., Farrona S., Ventura M. R., Abranches R. Canthaxanthin, a Red-Hot Carotenoid: Applications, Synthesis, and Biosynthetic Evolution. *Plants*. 2020, 9(8), 1039. doi:10.3390/plants9081039

35. Rostami F., Razavi S. H., Sepahi A. A., Gharibzahedi S. M. T. Canthaxanthin biosynthesis by *Dietzia natronolimnaea* HS-1: effects of inoculation and aeration rate. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2014, 45(2), 447–456. doi:10.1590/s1517-83822014005000046

36. Gharibzahedi S. M. T., Razavi S. H., Mousavi M. Optimisation and kinetic studies on the production of intracellular canthaxanthin in fed-batch cultures of *Dietzia natronolimnaea* HS-1. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*. 2015, 7(5), 757–767. doi:10.3920/qas2014.0503

37. Saiyed Farook Abuthahir S., Venil C. K., Malathi M., Renuka Devi P. Optimization of submerged fermentation for enhanced production of canthaxanthin by *Dietzia maris* AURCCBT01. *Materials Today: Proceedings*. 2021. doi:10.1016/j.matpr.2021.05.150

38. Ambati R., Phang S.-M., Ravi S., Aswathanarayana R. Astaxanthin: Sources, Extraction, Stability, Biological Activities and Its Commercial Applications—A Review. *Marine Drugs*. 2021, 12(1), 128–152. doi:10.3390/md12010128

39. Lu Q., Liu J.-Z. Enhanced astaxanthin production in *Escherichia coli* via morphology and oxidative stress engineering. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019. doi:10.1021/acs.jafc.9b05404

40. Lu Q., Bu Y.-F., Liu J.-Z. Metabolic Engineering of *Escherichia coli* for Producing Astaxanthin as the Predominant Carotenoid. *Marine Drugs*. 2017, 15(10), 296. doi:10.3390/md15100296

41. Gong Z., Wang H., Tang J., Bi C., Li Q., Zhang X. Coordinated Expression of Astaxanthin Biosynthesis Genes for Improved Astaxanthin

Production in *Escherichia coli*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2020. doi:10.1021/acs.jafc.0c05379

42. Orlandi V. T., Martegani E., Giaroni C., Baj A. Bacterial pigments: A colorful palette reservoir for biotechnological applications. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2021. doi:10.1002/bab.2170

43. Antimicrobial resistance [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

44. Dodou H. V., de Moraes Batista A. H., Sales G. W. P. Violacein antimicrobial activity on *Staphylococcus epidermidis* and synergistic effect on commercially available antibiotics. *Journal of Applied Microbiology*. 2017, 123(4), 853–860. doi:10.1111/jam.13547

45. Aruldass C. A., Masalamany S. R. L., Venil C. K., Ahmad W. A. Antibacterial mode of action of violacein from *Chromobacterium violaceum* UTM5 against *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Environmental Science and Pollution Research*. 2017, 25(6), 5164–5180. doi:10.1007/s11356-017-8855-2

46. Dike-Ndudim J. N., Ugenyi L. C., Ndubueze C. W. Assessment of antifungal potentials of violacein extract from *Chromobacterium violaceum* isolated from domestic and recreational water sources in Owerri, Imo State, Nigeria. *World Journal of Advanced Research and Reviews*. 2021, 10(3), 168-172.

47. Lapenda J. C., Silva P. A., Vicalvi M. C. Antimicrobial activity of prodigiosin isolated from *Serratia marcescens* UFPEDA 398. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2014, 31(2), 399–406. doi:10.1007/s11274-014-1793-y

48. Li D., Liu J., Wang X., Kong D. Biological Potential and Mechanism of Prodigiosin from *Serratia marcescens* Subsp. lawsoniana in Human Choriocarcinoma and Prostate Cancer Cell Lines. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018, 19(11), 3465. doi:10.3390/ijms19113465

49. Ji K., Kim Y. T. Antimicrobial activity of prodigiosin from *Serratia* sp. PDGS 120915 against intestinal pathogenic bacteria. *Microbiology and Biotechnology Letters*. 2019, 47(3), 459-464.
50. Rather A. H., Singh S., Choudhary S. Antibacterial activity of *Haematococcus pluvialis* crude astaxanthin extract. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2021, 11(2-S), 28-30.
51. Korun J., Ulutaş A. Investigation of the Antibacterial Effect of Astaxanthin and the Prevalence of Virulence and Antimicrobial Resistance Genes of *Aeromonas* spp. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*. 2022, 5(Ek sayı 1)), 135-143.
52. Alshatwi A. A., Subash-Babu P., Antonisamy P. Violacein induces apoptosis in human breast cancer cells through up regulation of BAX, p53 and down regulation of MDM2. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2016, 68(1), 89–97. doi:10.1016/j.etp.2015.10.002
53. Periz Ç. D., Ulusoy S., Tınaz G., Şekerler T. Antibacterial and Anticancer Activities of Violacein Extracted Through Ultrasound-Assisted Extraction Method. *Akademik Gıda*. 2020, 18(3), 241-246.
54. Nguyen V. B., Chen S.-P., Nguyen T. H., Nguyen M. T. Novel Efficient Bioprocessing of Marine Chitins into Active Anticancer Prodigiosin. *Marine Drugs*. 2019, 18(1), 15. doi:10.3390/md18010015
55. Nguyen S. L. T., Nguyen T. C., Do T. T., Vu T. L. Study on the Anticancer Activity of Prodigiosin from Variants of *Serratia marcescens* QBN VTCC 910026. *BioMed Research International*. 2022, 2022(1), 4053074.
56. Sheng Y.-N., Luo Y.-H., Liu S.-B., Xu W.-T. Zeaxanthin Induces Apoptosis via ROS-Regulated MAPK and AKT Signaling Pathway in Human Gastric Cancer Cells. *Oncotargets and Therapy*. 2020, 13, 10995–11006. doi:10.2147/ott.s272514
57. Lu F., Wu Q., Lei J., Zhou Y., Liu Y. Zeaxanthin impairs angiogenesis and tumor growth of glioblastoma: An in vitro and in vivo study. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2024, 754, 109957.

58. Araújo, R. G., Zavala, N. R., Castillo-Zacarias, C., Barocio, M. E., Hidalgo-Vázquez, E., Parra-Arroyo, L., ... & Parra-Saldívar, R. (2022). Recent advances in prodigiosin as a bioactive compound in nanocomposite applications. *Molecules*, 27(15), 4982.
59. Prodigiosin [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Prodigiosin>
60. Lu, Y., Liu, D., Jiang, R., Li, Z., & Gao, X. (2024). Prodigiosin: unveiling the crimson wonder—a comprehensive journey from diverse bioactivity to synthesis and yield enhancement. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1412776.
61. Someya, N., Nakajima, M., Hamamoto, H., Yamaguchi, I., & Akutsu, K. (2004). Effects of light conditions on prodigiosin stability in the biocontrol bacterium *Serratia marcescens* strain B2. *Journal of General Plant Pathology*, 70(6), 367–370. doi:10.1007/s10327-004-0134-7
62. Suryawanshi, R. K., Patil, C. D., Borase, H. P., Narkhede, C. P., Stevenson, A., Hallsworth, J. E., & Patil, S. V. (2014). Towards an understanding of bacterial metabolites prodigiosin and violacein and their potential for use in commercial sunscreens. *International Journal of Cosmetic Science*, 37(1), 98–107. doi:10.1111/ics.12175
63. Кількість населення України [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.rbc.ua/rus/news/mvf-otsiniv-kilkist-naselennya-ukrayini-ta-1713333704.html>
64. Держстат Чисельність та склад населення [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://stat.gov.ua/uk/explorer?urn=SSSU:DF\\_POPULATION\\_STRUCTURE\(7.0.0\)](https://stat.gov.ua/uk/explorer?urn=SSSU:DF_POPULATION_STRUCTURE(7.0.0))
65. HOW MUCH SUNSCREEN SHOULD YOU APPLY [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.airyday.co/blogs/sun-101/how-much-sunscreen-do-i-need-to-apply>
66. Lin, C., Jia, X., Fang, Y., Chen, L., Zhang, H., Lin, R., & Chen, J. (2019). Enhanced production of prodigiosin by *Serratia marcescens* FZSF02 in the

form of pigment pellets. *Electronic Journal of Biotechnology*. doi:10.1016/j.ejbt.2019.04.007

67. Khanam, B., & Chandra, R. (2018). Comparative analysis of prodigiosin isolated from endophyte *Serratia marcescens*. *Letters in Applied Microbiology*, 66(3), 194–201. doi:10.1111/lam.12840

68. Pat. CN115745863B China, 朱天择季立豪, Method for extracting prodigiosin from fermentation liquor containing prodigiosin, 2022-11-14, <https://patents.google.com/patent/CN115745863B/en>

69. Park, H., Lee, S. G., Kim, T. K., Han, S. J., & Yim, J. H. (2012). Selection of extraction solvent and temperature effect on stability of the algicidal agent prodigiosin. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 17(6), 1232–1237. doi:10.1007/s12257-012-0210-3

70. Someya, N., Nakajima, M., Hamamoto, H., Yamaguchi, I., & Akutsu, K. (2004). Effects of light conditions on prodigiosin stability in the biocontrol bacterium *Serratia marcescens* strain B2. *Journal of General Plant Pathology*, 70(6), 367–370. doi:10.1007/s10327-004-0134-7

71. 400 Liter DCI Reactor [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://fedequip.com/inventory/reactors/stainless-fabrication-400l-jacketed-pressure-vessel.html>

72. Перистальтический насос МР-1136-25 [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://prom-nasos.com.ua/ua/catalog/pumps-by-type/peristaltic\\_pumps/peristaltichniy-nasos-mp-1136-25/](https://prom-nasos.com.ua/ua/catalog/pumps-by-type/peristaltic_pumps/peristaltichniy-nasos-mp-1136-25/)

73. Batch centrifuges [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://broadbent.co.uk/ipd/products/batch-centrifuges/>

74. 300L Jacketed Stainless Steel Reactor [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://www.valuenlab.com/product/300l500ljacketed-stainless-steel-reactor?gad\\_source=1&gclid=Cj0KCQjwwuG1BhCnARIsAFWBUC3Zz5\\_QGEIIqpBpuXAXXRiiGJGb1sV29O91ynTFDPtbKPN3Qe\\_cHIaAg\\_yEALw\\_wcB](https://www.valuenlab.com/product/300l500ljacketed-stainless-steel-reactor?gad_source=1&gclid=Cj0KCQjwwuG1BhCnARIsAFWBUC3Zz5_QGEIIqpBpuXAXXRiiGJGb1sV29O91ynTFDPtbKPN3Qe_cHIaAg_yEALw_wcB)

75. Насос поверхневий WETRON відцентровий 1DK-20 [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://rozetka.com.ua/ua/436124819/p436124819/>
76. Установка ВВУ-500 [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://promvit.com.ua/vakuum-vyuparnaya-ustanovka-vvu-500/>
77. Перистальтичний насос HELIOS AS 10 FX-47 [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://prom-nasos.com.ua/ua/catalog/pumps-by-type/peristaltic\\_pumps/peristaltichniy-nasos-helios-as-10-fx-47/](https://prom-nasos.com.ua/ua/catalog/pumps-by-type/peristaltic_pumps/peristaltichniy-nasos-helios-as-10-fx-47/)
78. 15 LITRES STAINLESS STEEL 316L REACTOR [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://comquima.com/en/products/reactors/0-999-l/used-15-litres-stainless-steel-316l-reactor-with-agitation-e13023>
79. Колонка [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://www.ebay.com/itm/174219725138?var=473138504637&norover=1&mkevt=1&mkrid=711-167653-853678-5&mkcid=2&itemid=473138504637\\_174219725138&targetid=293946777986&device=c&mktype=pla&googleloc=9061019&poi=&campaignid=20143422176&mkgroupid=148565242265&rlsarget=pla-293946777986&abcId=&merchantid=653803224&gad\\_source=1&gclid=Cj0KCQjwt4a2BhD6ARIsALgH7Dq-hYT8\\_4hkkCE7VgOhQTyF-KsdUKKR3LbmQco2Tcw1omCbvVd826IaAh\\_mEALw\\_wcB](https://www.ebay.com/itm/174219725138?var=473138504637&norover=1&mkevt=1&mkrid=711-167653-853678-5&mkcid=2&itemid=473138504637_174219725138&targetid=293946777986&device=c&mktype=pla&googleloc=9061019&poi=&campaignid=20143422176&mkgroupid=148565242265&rlsarget=pla-293946777986&abcId=&merchantid=653803224&gad_source=1&gclid=Cj0KCQjwt4a2BhD6ARIsALgH7Dq-hYT8_4hkkCE7VgOhQTyF-KsdUKKR3LbmQco2Tcw1omCbvVd826IaAh_mEALw_wcB)
80. Хімічний реактор [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://machineryline.ua/ru/-/prodazha/himicheskie-reaktory/Stainless-Steel-Reactor--22081713362760063900>
81. Вакуум шафа СВ-30 [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://chemtest.com.ua/vakuumnye\\_sushilnye\\_shkafy-sv-30?filter=fd22%3D176](https://chemtest.com.ua/vakuumnye_sushilnye_shkafy-sv-30?filter=fd22%3D176)
82. Молотковий млин преміум-класу для тонкої обробки – GETC [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.cngetc.com/uk/premium-fine-processing-hammer-mill-getc/>

83. Pat. WO2020204293A1 WIPO, 김진영최수빈김경진홍성은계성봉, Uv-blocking cosmetic composition, 2019-10-29, <https://patents.google.com/patent/WO2020204293A1/en>
84. Державна Фармакопея України 1 том (2.0) (2015).
85. CFR - Code of Federal Regulations Title 21 [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=73.2327>
86. Chemical Jacketed Stainless Steel Reactor [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://www.alibaba.com/product-detail/Chemical-1L-2L-3L-5L-10L\\_1601037735288.html?spm=a2700.7724857.0.0.64e763f8emS3OT](https://www.alibaba.com/product-detail/Chemical-1L-2L-3L-5L-10L_1601037735288.html?spm=a2700.7724857.0.0.64e763f8emS3OT)
87. Насос відцентровий Leo 3.0 [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://rozetka.com.ua/ua/leo\\_775338/p11257509/](https://rozetka.com.ua/ua/leo_775338/p11257509/)
88. Насос перистальтичний у корпусі 253Ух [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://prom.ua/ua/p2098549363-nasos-peristalticheskij-korpuse.html>
89. Перистальтичний насос в корпусі 253d [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://prom.ua/ua/p2101320289-nasos-peristalticheskij-korpuse.html>
90. Тубонаповнювальна машина Ахomatic Ахо 3600 [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://gvp.com.ua/ua/tubonapovnyuvalna-mashyna-ahomatic-aho-3600>
91. Lin, C., Jia, X., Fang, Y., Chen, L., Zhang, H., Lin, R., & Chen, J. (2019). Enhanced production of prodigiosin by *Serratia marcescens* FZSF02 in the form of pigment pellets. *Electron. J. Biotechnol.*, 40, 58-64. doi:10.1016/j.ejbt.2019.04.007.
92. Park, Hee-Yong, Kim, Tai-Kyoung, Han, Se Jong, Yim, Joung-Han (2012). Enhancement of the Stability and Solubility of Prodigiosin Using Cyclodextrin in Seawater. doi:10.7841/ksbbj.2012.27.2.109

93. Wang, F., Luo, H., Song, G., Liu, C., Wang, J., Xu, J., ... & Ma, X. Y. (2013). Prodigiosin found in *Serratia marcescens* y2 initiates phototoxicity in the cytomembrane. *Electron. J. Biotechnol. ISSN.* , 16(4), 7-7. doi: 10.2225/vol16-issue4-fulltext-7.
94. USP 731 Loss on Drying. Methods of determination of moisture content in pharmaceutical substances [Electronic resource]: monograph from the United States Pharmacopeia. – Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2020 – 32 p.
95. Stanfield, J., Osterwalder, U., & Herzog, B. (2010). In vitro measurements of sunscreen protection. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 9, 489-494.
96. Suryawanshi, R. K., Patil, C. D., Borase, H. P., Narkhede, C. P., Stevenson, A., Hallsworth, J. E., & Patil, S. V. (2014). Towards an understanding of bacterial metabolites prodigiosin and violacein and their potential for use in commercial sunscreens. *International Journal of Cosmetic Science*, 37(1), 98–107. doi:10.1111/ics.12175
97. Shaath, N. A. (2010). Sunscreens: Regulations and Commercial Development. 3rd ed., CRC Press. DOI:10.1016/j.clindermatol.2006.09.002
98. Serpone, N., & Dondi, D. (2006). Sunscreens and Their Consequences on Human Health and the Environment. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 5(4), 335-343.
99. Wang, S. Q., & Lim, H. W. (2011). Efficacy and Safety of Modern Sunscreens. *Dermatologic Clinics*, 29(2), 149-159
100. Trewin, H., & Douglass, T. (2011). Safety and Efficacy of Zinc Oxide Nanoparticles in Sunscreens. *Australian Journal of Dermatology*, 52(1), 58-64. DOI:10.2147/NSA.S19419