

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет медико-фармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: «ОРГАНІЗАЦІЯ ВИРОБНИЦТВА АНТИБІОТИКА
ГРАМІЦИДИНА МІКРОБНИМ СИНТЕЗОМ»

Виконав : здобувачка вищої освіти групи БТ621(3,10д)-01
спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія
освітньої програми Біотехнологія

Тетяна МАСЛОВА

Керівник: Доцент закладу вищої освіти кафедри біотехнології,
к.фарм.н, с.н.с. Наталія ДВІНСЬКИХ

Рецензент: Начальник сектору технологічних досліджень
відділу фармацевтичної розробки ТОВ «БІОЛІК
ФАРМА» к.фарм.н., с.н.с. Лариса СІДЕНКО

АНОТАЦІЯ

Кваліфікаційна робота присвячена організації виробництва антибіотика граміцидина мікробним синтезом. У роботі складено опис технологічного процесу отримання антибіотика граміцидина з використанням виробничого штамму *Bacillus brevis* (*Brevibacillus parabrevis*) ATCC 8185, складено технологічну, біологічну та апаратурну схеми виробництва. Як основний апарат запропоновано впровадження автоматичного ферментера ФА-200. Робота складається з вступу, чотирьох розділів, графічних матеріалів, висновків, списку літератури з 33 джерел та додатків. Загальний обсяг роботи становить 76 сторінок, містить 15 рисунків, 7 таблиць та 2 креслення формату А1.

Ключові слова: антибіотики, граміцидин С, культивування, автоматичний ферментер, молочне середовище.

ANNOTATION

The qualification work is devoted to the organization of the production of the antibiotic gramicidin by microbial synthesis. The work describes the technological process for obtaining the antibiotic gramicidin using the production strain *Bacillus brevis* (*Brevibacillus parabrevis*) ATCC 8185, and a technological, biological and hardware scheme of production is compiled. As the main apparatus of the automatic fermenter FA-200. The work consists of an introduction, four chapters, graphic materials, conclusions, a list of literature from 33 sources and appendices. The total volume of the work is 76 pages, contains 15 figures, 7 tables and 2 drawings of A1 format.

Keywords: antibiotics, gramicidin C, cultivation, automatic fermenter, milk medium.

ЗМІСТ

Вступ.....	4
1 Аналітичний огляд.....	7
2 Характеристика готового продукту, сировини, матеріалів, напівпродуктів.....	16
2.1 Характеристика готового продукту.....	16
2.2 Характеристика сировини, матеріалів, напівпродуктів	17
2.3 Характеристика біологічного об'єкту.....	21
2.2 Біосинтез цільового продукту.....	24
3 Технологічна частина.....	26
3.1 Розрахунок матеріального балансу.....	26
3.2 Розрахунок і вибір основного та допоміжного обладнання....	32
3.3 Опис технологічного процесу.....	39
3.4 Схеми виробництва (зі специфікацією обладнання).....	51
3.5 Критичні параметри виробництва.....	64
3.6 Екологічні аспекти виробництва.....	69
Висновок.....	72
Список використаної літератури.....	73
Додатки.....	77

					162.01.10.00 000 ПЗ			
Змн..	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив	Маслова Т.Ю.				Організація виробництва антибіотика граміцидина мікробним синтезом		Літ.	Арк.
Перевірів	Двінських Н.В.							Аркушів
.							2	72
Н. контр.							НФаУ	
Затвердив	Хохленкова Н.В.				Пояснювальна записка		Кафедра біотехнології	

ВСТУП

Актуальність теми. Незважаючи на появу нових антибіотиків, граміцидин, як поліпептидний антибіотик, сьогодні набуває популярності. Граміцидин є цінним у лікуванні певних бактеріальних інфекцій. Зростання антибіотикорезистентності до інших груп антибіотиків тільки підкреслює важливість підтримки виробництва та дослідження вже існуючих ефективних препаратів на основі антибіотика граміцидина.

Виробництво антибіотиків шляхом мікробного синтезу є економічно вигідним і екологічно безпечним методом порівняно з хімічним синтезом. Даний метод дозволяє отримувати складні біологічно активні молекули, які важко або неможливо синтезувати хімічним шляхом.

Дослідження та вдосконалення процесів мікробного синтезу граміцидину можуть відкрити нові можливості для створення нових лікарських препаратів на основі граміцидину, аналогів або похідних з покращеними властивостями, а також для вивчення механізмів дії та потенційних застосувань. У зв'язку з цим є актуальним організація виробництва антибіотиків мікробним синтезом, зокрема граміцидину С.

Мета роботи полягає в організації виробництва антибіотика граміцидина мікробним синтезом на вітчизняному підприємстві.

Для досягнення мети були визначені завдання:

- проаналізувати ринок препаратів на основі граміцидина в Україні та в світі;
- встановити, який штам використовують для отримання антибіотику граміцидин С;
- дослідити особливості технологічного процесу отримання граміцидину мікробним синтезом;
- запропонувати технологію отримання антибіотика граміцидина С для організації його виробництва на вітчизняному підприємстві, скласти технологічну та біологічну схеми виробництва;

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		4

- проаналізувати технологічне обладнання, необхідне для організації виробництва грамїцидину та провести технологічні розрахунки;

- визначити основний апарат для технологічного процесу, розглянути ринкові пропозиції такого виду обладнання, яке можна запропонувати для використання у пропонованому технологічному процесі.

Об'єктом роботи є антибіотик грамїцидин С по 1 кг у алюмінієвих або пластикових пакетах.

Предметом роботи є технології отримання поліпептидного антибіотику бактерійного походження грамїцидину С, компоненти для формування живильних середовищ для отримання посівного матеріалу та для промислового культивування, обладнання для організації виробничого процесу на потужностях вітчизняного підприємства.

Методи, застосовані в дослідженні: аналіз, порівняння, скринінг даних, технологічні розрахунки, графічне викладення схем.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати мають значне практичне значення для вітчизняної фармацевтичної промисловості та системи охорони здоров'я України.

Організація виробництва грамїцидину С мікробним синтезом на вітчизняному підприємстві дозволить забезпечити внутрішній ринок якісним та доступним антибіотиком, зменшуючи залежність від імпорتنих поставок. Це особливо важливо в умовах зростання антибіотикорезистентності, що вимагає постійного пошуку та виробництва ефективних протимікробних засобів.

Розроблена технологія та підібране обладнання можуть стати основою для масштабування виробництва та розширення асортименту лікарських засобів на основі грамїцидину, включаючи аналоги та похідні з покращеними властивостями.

Розроблені технологічна та біологічна схеми виробництва, а також розрахунки необхідного обладнання, можуть слугувати практичним посібником при впровадженні та оптимізації виробничих процесів, сприяючи

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		5

підвищенню ефективності та конкурентоспроможності українських фармацевтичних підприємств.

За темою роботи опубліковано тези:

Маслова Т.Ю. Аналіз умов культивування продуценту граміцидину / Маслова Т.Ю., наук. кер.: Двінських Н.В. // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: мат. XXXI міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів (23-25 квітня 2025 р., м. Харків). – Харків: НФаУ, 2025. – С. 181-183.

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
						6
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

1 АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД

1.1 Аспекти антибіотичних препаратів.

Актуальність антибіотиків на сьогоднішній день і далі залишається. Вони залишаються одним з найважливіших досягнень медицини, що рятують мільйони життів від бактеріальних інфекцій. Антибіотики – це органічні речовини, які є продуктами життєдіяльності живих клітин, що використовують для боротьби з бактеріальними інфекціями. Розрізняють антибіотики:

- 1) бактерицидної дії- характеризується вбиттям бактерії;
- 2) бактеріостатичної дії- характеризується сповільністю або припиненням росту та розможення бактерій. [20]

Але незважаючи на незамінність антибіотиків, їх актуальність наразі тісно пов'язана з величезною проблемою – антибіотикорезистентністю. Антибіотикорезистентність – це здатність мікроорганізмів набувати стійкості до дії антибіотиків, роблячі лікування інфекційних хвороб практично неможливим. Основними проблемами антибіотикорезистентності є:

- 1) самолікування, необґрунтоване призначення та недотримання курсу лікування. Нажаль, пацієнти часто приймають антибіотики без призначення спеціаліста, або і сам лікар може призначити антибіотики при вірусних інфекціях (наприклад, грип або ГРВІ), проти яких антибіотики абсолютно неефективні;
- 2) швидкість розвитку до резистентності. Відомо, що деякі види бактерій мають здатність до швидкої адаптації та розвитку стійкості до антибіотиків. В подальшому ці здібності передаються генетично іншим бактеріям, отже, ефективність антибіотиків з часом знижується.

У зв'язку зростаючої проблеми антибіотикорезистентності, важливість антибіотика граміцидин на даний час набуває нових особливих відтінків. На відміну від багатьох системних антибіотиків, які використовують для

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		7

лікування внутрішніх інфекцій і які є основними мішенями для розвитку резистентності, антибіотик граміцидин залишається переважно антибіотиком для місцевого застосування. Використання граміцидину місцево дозволяє уникнути системного впливу на мікрофлору організму людини, і тим самим знижує ризик розвитку системної антибіотикорезистентності. Також, коли місцева інфекція може бути ефективно вилікувана граміцидином, зменшується потреба у призначенні системних антибіотиків. Таким чином, системні антибіотики залишаються доступними та ефективними для лікування серйозних інфекцій, де їх застосування є життєво необхідним. [32]

1.2. Поліпептидні антибіотики.

Граміцидин належить до класу поліпептидних антибіотиків. Поліпептидні антибіотики (поліміксини) - це є група антибіотиків, які побудовані із циклічного пептиду і довгого гідрофобного хвоста; вони порушують структуру клітинних стінок бактерії, діючи на її фосфоліпіди. Ця характеристика є важливою, оскільки поліпептидні антибіотики мають специфічний механізм дії, який відрізняється від механізмів дії інших видів антибіотиків. Вони зазвичай діють на порушення цілісності бактеріальної клітинної мембрани, що призводить до загибелі клітини. [1, 4]

Існує два класи пептидних антибіотиків: нерибосомальні та рибосомальні.

Нерибосомно синтезовані пептиди, наприклад бацитрацин, граміцидини і поліміксини, продукуються переважно бактеріями і мають вузький спектр активності. Багато з цих антибіотиків були замінені в 1970-х роках, коли були запроваджені інші нові класи антибіотиків з більш широким спектром активності.

З'ясовано, що деякі антимікробні препарати, зокрема граміцидин С, має протиракові властивості. Але його використання обмежене руйнівною дією на еритроцити та тромбоцити людини. Тому ціленаправлена доставка лікарського засобу до клітин-мішеней дозволяє отримати протипухлинні

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		8

властивості вже зареєстрованого лікарського засобу. Граміцидин С — циклічний катіонний антимікробний пептид з широким спектром антибактеріальної дії щодо грампозитивних бактерій, грибів та найпростіших.

Отже, одним із таких поліпептидних антибіотиків є Граміцидин С. Молекула цього антибіотика складається з 10 амінокислотних залишків 5 амінокислот: L-валін, L-орнітин, L-лейцин, D-пролін, D-фенілаланін

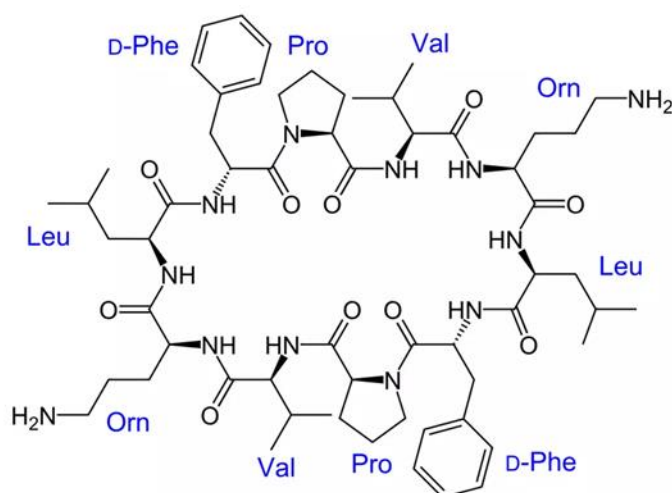


Рис. 1.1 – Структура молекули граміцидину.[1]

На сьогодні відомо п'ять видів граміцидинів А, В, CD, C(S) і D. Вони відрізняються за амінокислотним складом. Граміцидини А, В, CD и D є лінійними пептидами (відкриті та виділені Hotchkiss та Dubos, 1940-49), а граміцидин С(S) – циклічний декапептид.

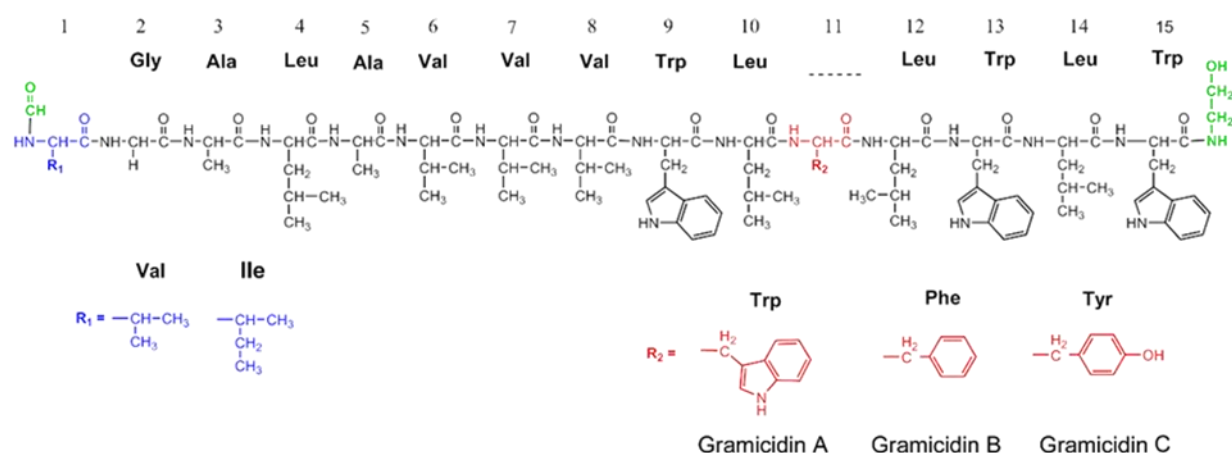


Рис. 1.2 – Структура лінійних граміцидинів. [2]

Первинна структура молекули грамїцидину А є L/D пентадекапептидом із чергуванням амінокислот. 11-а амінокислота (показана червоним) визначає тип грамїцидину: грамїцидин А містить триптофан, грамїцидин В - фенілаланін і грамїцидин CD - тирозин.

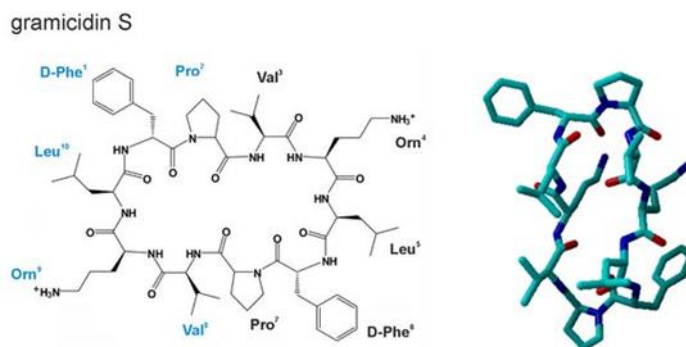


Рис. 1.3 – Просторова структура циклічного грамїцидину С. [3]

Грамїцидин С продукується споровою паличкою *Bacillus brevis* ATCC 8185, який є ефективним щодо стрептококів, стафілококів і збудників анаеробної інфекції; переважно активний проти грам-позитивних бактерій. Грамїцидин С пройшов перевірку часом, і в наші дні є антибіотиком, який використовується при лікуванні інфекційно-запальних захворювань, гнійних ран, виразок, пролежнів, а також при запальних хворобах вух, горла, кон'юнктивіту.

У 1942 році Г. Ф. Гаузе та М. Г. Бражнікова створили грамїцидин С, що був одним із перших антибіотиків. Тому з цього ж моменту антибіотик стали успішно використовувати у фронтових госпіталях при лікуванні ускладнень ранових інфекцій. Отже, завдяки Грамїцидину С було врятовано життя сотень тисяч солдатів та офіцерів. Але недоліком цього антибіотику була висока токсичність, тому він міг застосовуватися лише зовнішньо. Важлива відмінність Грамїцидину С від інших антибіотиків є те, що до нього практично не розвивається стійкість до патогенних мікроорганізмів.[25]

Хімічна природа Грамїцидину С добре вивчена і це дозволило Швайзеру та Зіберу у 1956 році здійснити повний синтез антибіотику. Група співробітників із Массачусетського технологічного інституту (США) розробила в 1973 році метод ферментативного синтезу грамїцидину С. Для

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		10

ферментативного синтезу цього антибіотика-поліпептиду була потрібна іммобілізація кількох ферментів і розробка АТФ-системи, що функціонує як легко відновлюване енергетичне джерело.

1.3. Механізм дії антибіотику Граміцидину С.

Грамідин С утворює пори в клітинних мембранах бактерій, порушуючи їхню цілісність і, тим самим, призводячи до загибелі клітини. Цей механізм відрізняється від дії багатьох інших антибіотиків, що робить його менш схильним до розвитку резистентності. Через таку функціональну схожість грамідин С може позитивно взаємодіяти з нормальною мікрофлорою ротоглотки.[18]

1.4. Аспекти виробництва антибіотика грамідину в Україні.

Виробництво вітчизняного препарату граміцидину є актуальним і економічно-вигідним рішенням в наш час, оскільки на ринку України немає цього антибіотику, а виробництво могло б скоротити витрати на імпорتنі аналоги та збільшити конкуренцію з іншими антибіотиками.

На українському ринку Грамідин С представлений у складі комбінованих препаратів, які випускаються у різних лікарських формах:

- таблетки для розсмоктування-застосовуються для лікування інфекцій ротової порожнини та горла.
- мазі та креми, які призначені для місцевого лікування інфекційних уражень шкіри.
- очні та вушні краплі, що використовуються при бактеріальних інфекціях очей та вухей. [21]

1.5. Огляд лікарських препаратів, представлений на ринку України на основі граміцидину.

Грамідин С.

Діюча речовина: Грамідин С.

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		11

Фармакологічна група: антибіотик поліпептидної структури.
Відповідно до АТХ: R02AB30 Граміцидин.

Опис лікарської форми: таблетки білого або білого з жовтуватим відтінком кольору, плоскоциліндричні з фаскою, з рискою на одному боці і маркуванням «R» або без неї - на інший. [8]

Фармакодинаміка: протимікробний препарат для лікування інфекційно-запальних захворювань горла і ротової порожнини.

Фармакокінетика: у зв'язку з низькою системною абсорбцією, дані щодо фармакокінетики препарату відсутні. Препарат має місцеву дію і практично не всмоктується в шлунково-кишковому тракті, що обумовлює практично повну відсутність системних ефектів.

Показання препарату Граміцидин С.

- інфекційно-запальні захворювання порожнини рота і горла:
- гострий тонзиліт (ангіна);
- фарингіт;
- пародонтоз;
- гінгівіт;
- стоматит.

Протипоказання: підвищена чутливість до компонентів препарату; період лактації; діти, віком до 4 років.

Софрадекс® (SOFRADEX®).

Слід зазначити також французьку компанію «Sanofi», яка випускає очні та вушні краплі на основі Граміцидину С.

Склад: 1 мл містить фраміцетину сульфату 5,0 мг, граміцидину 0,05 мг, дексаметазону (як натрію метасульфобензоату) 0,5 мг;

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
						12
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		



Рис. 1.4 – Зовнішній вигляд лікарського засобу «Софрадекс». [4]

Трахісан (TRACHISAN ®)



Рис. 1.5 – Зовнішній вигляд лікарського засобу «Трахісан». [23]

Склад:

діючі речовини: тиротрицин, лідокаїну гідрохлорид моногідрат, хлоргексидину диглюконат;

1 таблетка містить тиротрицину 0,5 мг, лідокаїну гідрохлориду моногідрату 1 мг, хлоргексидину диглюконату 1 мг;

допоміжні речовини: сорбіт (Е 420), магнію стеарат, олія м'яти перцевої;

1 таблетка містить 0,69 г сорбіту (цукрозамінної речовини), що відповідає 0,057 хлібної одиниці.

Лікарська форма. Таблетки для смоктання.

Тирозур

Тиротрицин є сполукою різних циклічних і лінійних поліпептидів, які виявляють антибактеріальну активність, і утворюється як ендотоксин анаеробними спороутворюючими *Bacillus brevis*. Ця сполука містить до 70–

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		13

80 % тироцидинів (основних циклічних декапептидів) і до 20–30 % грамїцидинів (нейтральних лінійних пентадекапептидів).

Проведеними дослідженнями встановлено високу ефективність лікування піодермій у дітей раннього віку антибактеріальним препаратом для місцевого застосування Тирозур, що підтверджено результатами мікробіологічних досліджень та клінічних спостережень. Препарат проявив добру переносимість та безпечність, не відмічались алергічні та інші шкірні реакції.

Перевагою препарату, що випускається у формі гелю та порошку (рис. 1.3), є можливість застосування на невеликих поверхнях шкіри, враховуючи відсутність даних про можливість всмоктування через шкіру.



Рис. 1.6. Зовнішній вигляд лікарських засобів «Тирозур». [23]

Таким чином, з огляду на високу ефективність, антибактеріальну активність, добру переносимість та безпечність, препарат Тирозур («Енгельгард Арцнайміттель ГмбХ & Ко. КГ», Німеччина) у вигляді гелю та порошку може бути рекомендований до широкого застосування при лікуванні піодермій у дітей раннього віку.

Висновок до розділу 1:

Проаналізовано наукову та довідкову літературу щодо актуальності антибіотиків, розглянуто проблему антибіотикорезистентності, проаналізовано про клас поліпептидних антибіотиків, виявлено важливість антибіотика грамїцидин; проаналізовано препарати, які є на ринку України на основі антибіотика грамїцидин.

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		14

Таким чином, у світі, де антибіотикорезистентність стає все більш гострою проблемою, грамїцидин зберігає свою актуальність як ефективний та безпечний місцевий антибіотик, що дозволяє вирішувати проблеми локальних бактеріальних інфекцій без надмірного використання системних препаратів. Його виробництво мікробним синтезом є важливим для забезпечення стабільного доступу до цього цінного лікарського засобу.

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
						15
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

2 ХАРАКТЕРИСТИКА ГОТОВОГО ПРОДУКТУ, СИРОВИНИ, МАТЕРІАЛІВ, НАПІВПРОДУКТІВ

2.1 Характеристика готового продукту

Назва готового продукту: Граміцидин С, порошок-субстанція.

Нормативна документація: МКЯ (проект).

Форма випуску: по 1 кг кожний в пакетах з алюмінієвої фольги або пластикових.

Опис. Білий або світло-жовтий кристалічний порошок, без запаху, без видимих сторонніх включень.

Ідентифікація. **А.** Метод інфрачервоної спектроскопії (підтвердження структури циклічного декапептиду (цикло(-Val-Orn-Leu-D-Phe-Pro-)₂). **В.** Метод ВЕРХ (хроматографічний профіль із характерним часом утримання, ідентичним еталонному зразку).

Домішки. Не перевищує 2% (метод ВЕРХ) (граміцидини А, В, продукти деградації).

Втрата маси при висушуванні. Не більше 5% (при 60 °С у вакуумі протягом 4 годин).

Розчинність. Розчинний у етанолі (не менше 10 мг/мл), слабо розчинний у ацетоні, нерозчинний у воді (<6 мг/л).

Вміст активної речовини. Не менше 98% (метод ВЕРХ із детектором UV при 280 нм).

Мікробіологічна чистота. Відсутність патогенних мікроорганізмів (*Salmonella*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*), загальна мікробна обсемененість <10² КУО/г.

Токсичність. Гемолітична активність у концентраціях до 50 мкг/мл не перевищує 10% (тест на еритроцитах).

Антибактеріальна активність. Мінімальна інгібіторна концентрація (MIC) проти *Staphylococcus aureus* – 3,9–62,5 мкг/мл.

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
						16
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Розмір частинок. Не більше 100 мкм (визначається методом ситового аналізу).

Фармакологічні властивості: є ефективним щодо стрептококів, стафілококів і збудників анаеробної інфекції; переважно активний проти грам-позитивних бактерій, зокрема *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* та *Streptococcus pneumoniae*, *Diplococcus pneumoniae*. Підвищує проникність мембрани мікробної клітини для неорганічних катіонів за рахунок формування мережі каналів у ліпідних структурах мембрани, що зумовлює розвиток осмотичної нестійкості клітини.

Показання: інфекційно-запальні захворювання порожнини рота та горла:

- Гострий тонзиліт (ангіна);
- Фарингіт;
- Пародонтоз;
- Гінгівіт;
- Стоматит.

Побічна дія: алергічні реакції, контактний дерматит.

Протипоказання: гіперчутливість, дерматоз (для зовнішнього застосування), вагітність, період грудного вигодовування.

У Зберігання: У герметичній тарі, при температурі 2–8 °С, захищено від світла та вологи.

Термін придатності: 2 роки за умов належного зберігання

2.2 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів

Характеристика сировини, матеріалів, напівпродуктів наведена у таблиці 2.1.

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
						17
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Таблиця 2.1 - Характеристика сировини, матеріалів, напівпродуктів, що використовуються при виробництві антибіотика «Грамідин С» .

Найменування	Категорія та номер НТД	Показники НТД, обов'язкові для перевірки	Примітка
1	2	3	4
1. Основна сировина:			
Штам <i>Bacillus brevis</i> ATCC 8185	Паспорт	Штам <i>Bacillus brevis</i> ATCC 8185	Для отримання посівного матеріалу
Бактотриптон	НТД виробника	Зовнішній вигляд, колір, запах, розчинність, рН, втрата при висушуванні, вміст загального та амінного азоту.	Входить до складу середовища ТУГ
Дріжджовий екстракт	НТД виробника	Зовнішній вигляд, розчинність у воді, рН, вміст загального азоту, вміст сухої речовини.	Входить до складу середовища ТУГ
Д-глюкоза	ДСТУ 4464:2005	Зовнішній вигляд, смак, колір, запах, вологість, мікробіологічні показники, жиру, фізико-хімічні показники глюкози, ртуть, миш'як, мідь, свинець, кадмій, цинк	Входить до складу середовища ТУГ
Калію хлорид (KCl)	ГОСТ 4568	Опис, ідентифікація, вміст основної речовини, вологість, наявність домішок, сульфаті, залізо, важкі метали.	Входить до складу середовища ТУГ
Натрію хлорид (NaCl)	ДСТУ 3583-97	Ідентифікація, вміст основної речовини, втрата при висушуванні, кислотність або лужність, важкі метали.	Входить до складу середовища ТУГ
Магнію сульфат (MgSO ₄) x 7H ₂ O	ДСТУ 7274	Масова частка кальцію та магнію карбонатів, речовин, нерозчинних в соляній кислоті, заліза, вологи, білизна	Входить до складу середовища ТУГ
Калію фосфат двозаміщений (K ₂ HPO ₄)	НТД виробника	Ідентифікація, вміст основної речовини, вологість, рН, домішки.	Входить до складу середовища ТУГ

Продовження таблиці 2.1

1	2	3	4
Кальцію хлорид (CaCl_2) x 2 H_2O	ДСТУ 7274	Ідентифікація, вміст основної речовини, втрата при висушуванні, амоній, важкі метали, сульфати, залізо.	Входить до складу середовища TYG
Калію сульфат (K_2SO_4)	НТД виробника	Ідентифікація, вміст основної речовини, наявність натрію, важкі метали, втрата при висушуванні.	Входить до складу середовища TYG
Натрію сульфат (Na_2SO_4)	ГОСТ 21458-75	Ідентифікація, вміст основної речовини, втрата при прокалюванні, важкі метали	Входить до складу середовища TYG
Натрію гідрокарбонат (NaHCO_3)	ГОСТ 2156-76	Ідентифікація, вміст основної речовини, втрата при прожарюванні, важкі метали.	Входить до складу середовища TYG
Натрію карбонат (Na_2CO_3)	ГОСТ 83	Ідентифікація, вміст основної речовини, втрата при висушуванні, лужність, домішки.	Входить до складу середовища TYG
Заліза едетат	НТД виробника	Ідентифікація, вміст основної речовини, вміст заліза, Ступінь хелатизації.	Входить до складу середовища TYG
Вода очищена	ДФУ 2 вид., доп. 2, ст. 129 [17]	Опис, нітрати, вміст загального органічного вуглецю або речовини, що окиснюються, питома електропровідність, мікробіологічна чистота	Розчинник для живильного, виробничого середовищ
Вода питна	ДсанПіН 2.2.4-171-10	Прозорість, рН, електропровідність, вміст нітратів, хлоридів, сульфатів.	Входить до складу середовища TYG
2. Допоміжна сировина:			
Вода очищена	ДсанПіН 2.2.4-171-10	Не входить до переліку сировини, що підлягає вхідному контролю	Для санітарної підготовки

Продовження таблиці 2.1

1	2	3	4
Вода питна	ДСанПіН 2.2.4-171-10	Не входить до переліку сировини, що підлягає вхідному контролю.	Для санпідготовки
Спирт етиловий ректифікований	ДСТУ 4221:2003 «Екстра», «Вищої очистки»	Опис, колір, смак, запах, об'ємна частка етилового спирту.	Для приготування дезінфікуючого розчину
Мийний засіб	НТД виробника, дозвіл на використання	Не входить до переліку сировини, що підлягає вхідному контролю	Для санобробки, для приготування дезрозчину
3. Матеріали:			
Марля медична	ТУ У 24.4-34588794-001:2007 Тип 17, шир. 90 см	Не входить до переліку сировини, що підлягає вхідному контролю	Для допоміжних цілей
Рукавички медичні	ДСТУ EN 455-3:2019	Не входить до переліку сировини, що підлягає вхідному контролю	Для створення асептики
Стрічка клейка (скотч)	ГОСТ 20477-86	Ширина стрічки, товщина клейового шару, довжина, липкість	Для транспортної тари
Пакети алюмінієві/пластикові	ДСТУ 7796:2015 НТД виробника	Зовнішній вигляд, основні розміри	Для упакування
4. Проміжні продукти			
Середовище молочне стерилізоване	Методика міжопераційного контролю	рН, стерильність	Стадія 3

Продовження таблиці 2.1

1	2	3	4
Сереовище TYG	Методика міжопера ційного контролю	pH, стерильність	Стадія 3
Посівна культура V генерації	Методика міжопера ційного контролю	Життєздатність м/о, концентрація біомаси, об'єм	Стадія 4
Культуральна рідина	Методика міжопера ційного контролю	pH, концентрація граміцидину С	Стадія 5
Згущена біомаса	Методика міжопера ційного контролю	Густина, вага	Стадія 6
Екстракт граміцидина	Методика міжопера ційного контролю	Вага, вміст граміцидину С	Стадія 7
Висушені гранули	Методика міжопера ційного контролю	Вміст сухих речовин, вміст граміцидину	Стадія 8
Нерозфасован ий порошок граміцидина	Методика міжопера ційного контролю	Вміст граміцидину	Стадія 8
Пакети наповнені	Методика міжопера ційного контролю	Маса	Стадія 9

2.3 Характеристика біологічного об'єкту

Продуцент, який використовується у виробництві антибіотика
Граміцидин С є штамм *Bacillus brevis* (типовий штам - ATCC 8185) – це

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		21

паличкоподібна бактерія, вона є грампозитивною, анаеробною, рухливою, а також спороутворюючою. Належить до роду *Brevibacillus*.

Штами *Brevibacillus* мають потенційні протигрибкові властивості, що діють як агенти біоконтролю. Середовищем існування *Brevibacillus* є ґрунт, але також зустрічається в повітрі, воді, а також у місцях розкладання органічних речовин. перше штам *Bacillus brevis* було описано у 1900 році Вальетром Мігулою. [18]

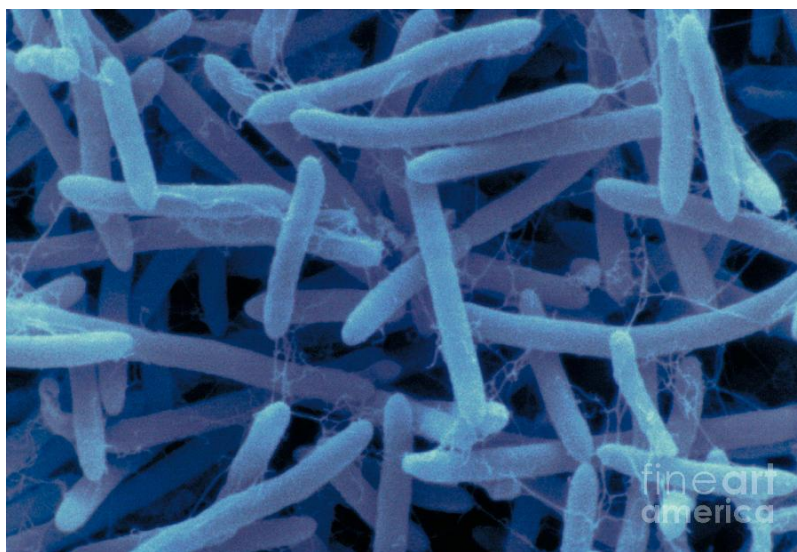


Рис. 2.1 – Бактерія *Bacillus brevis*. [18]

Клітини розташовуються поодинокі, попарно або короткими ланцюжками. Вони мають здатність до руху завдяки наявності перитрихціальних джгутиків. У несприятливих умовах *Bacillus brevis* формує овальні ендоспори, які розташовуються субтермінально або термінально, не деформуючи клітину. Капсули не утворює. Клітинна стінка типова для грампозитивних бактерій — товста, з високим вмістом пептидоглікану. Спори забезпечують високу стійкість до температури, висушування та дії хімічних агентів.

Клітини бактерії *Bacillus brevis* мають довжину 4-5 мкм та ширину 0,6-0,7 мкм. Спори циліндричні з овальними кінцями. Оптимальна температура росту бактерій від 35 °С до 55 °С. Оптимальний рівень рН для росту —

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		22

близько 7,0. Бактерії *Bacillus brevis* мають позитивну активність на каталазу і желатин, але негативний на амілазу, казеїн та індол. Ці бактерії активно розщеплюють білки та амінокислоти, утворюють аміак, а також продукують різноманітні ферменти, включаючи протеази, амілази та рибонуклеази. *Bacillus brevis* не зброджує вуглеводи або зброджує їх дуже обмежено, зазвичай без утворення газу. [2]

Bacillus brevis добре росте на звичайних поживних середовищах, які містять джерела азоту, вуглецю та мінеральні солі. На поживних середовищах утворює великі, сухі або зморшкуваті колонії з нерівними краями, часто з характерним запахом. Не знижує нітрати до нітритів, не продукує індол, не розріджує желатину, але гідролізує крохмаль.

Колонії мають кремовий колір, гладку або зморшкувату поверхню та чіткі краї. Розмір колоній зазвичай становить 1–3 мм після 24–36 годин інкубації при температурі 30 °C. [5]

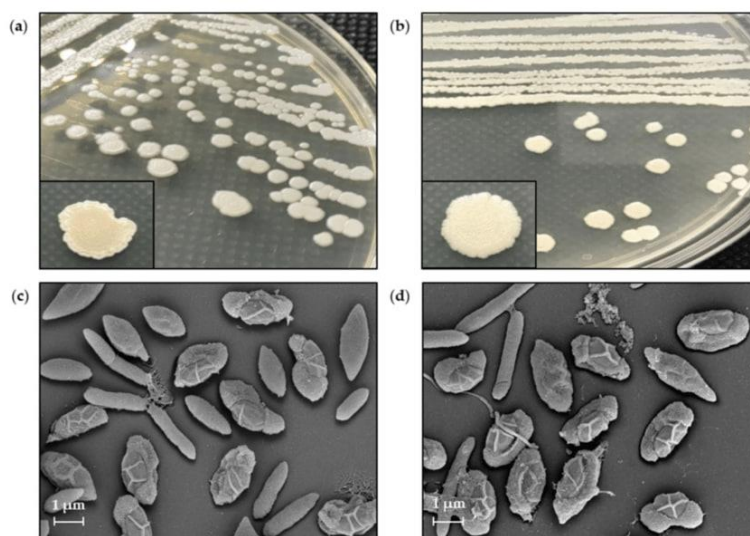


Рис. 2.3 - Зображення колоній *Bacillus brevis* у чашці Петрі. [2]

Bacillus brevis має відносно невеликий бактеріальний геном, представлений однією циркулярною дволанцюговою ДНК, розміром приблизно 4–6 мегабаз (Mb). Геном містить близько 4000–5000 генів, більшість з яких відповідають за основні клітинні функції: реплікацію, транскрипцію, трансляцію, метаболізм, клітинну стінку, спороутворення,

регуляцію та стресову відповідь. Особливістю генетичного профілю *B. brevis* є наявність генів, що кодують синтез біологічно активних речовин, зокрема:

- 1) гени кластерів непептидного синтазу — відповідають за синтез граміцидину та інших антимікробних пептидів;
- 2) гени, що кодують ферменти протеолітичної активності, такі як серинові протеази, що беруть участь у розщепленні білків;
- 3) гени спороутворення — забезпечують формування терmostійких ендоспор;
- 4) гени регуляторних білків — контролюють експресію у відповідь на зміни навколишнього середовища.

Геном *Bacillus brevis* відзначається високим вмістом гуаніну та цитозину (G+C) — близько 47–50%. Завдяки добре вивченому геному, *Bacillus brevis* активно використовується в біотехнології як продуцент антибіотиків і ферментів. Його ДНК легко піддається генетичній модифікації, що дозволяє створювати рекомбінантні штами з підвищеною продуктивністю цінних сполук. [2]

2.4. Біосинтез граміцидину

Біосинтез граміцидину є складним процесом і включає в себе кілька етапів. Його біосинтез відбувається не за участю рибосом, а завдяки нерибосомному пептидному синтезу — спеціальному механізму, притаманному продуцентам вторинних метаболітів. Відбувається біосинтез за наявності двох ферментів – граміцидинсинтази I та II в присутності АТФ і іонів магнію. Процес біосинтезу починається з активації амінокислот, які будуть складати пептид, а потім із з'єднання в пептидну послідовність, що в кінцевому результаті формує граміцидин. [10]

Етапи біосинтезу включають в себе:

1. активація амінокислот за допомогою АТФ. Кожна з п'яти амінокислот, що входять до складу граміцидину С (фенілаланін, пролін, валін, орнітин та лейцин), спочатку активується за допомогою АТФ. Це призводить до утворення ациладенілатів, які

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		24

потім зв'язуються з тіоловими групами на спеціальних доменах ферменту, утворюючи тіоефіри;

2. з'єднання активованих амінокислот в пептидну послідовність за допомогою пептидсинтаз. Це відбувається на граміцидин С-синтетазі — великому мультиферментному комплексі. Цей комплекс складається з двох субодиниць: Граміцидин С-синтетаза 1 (відповідає за приєднання L-фенілаланіну та його рацемізацію в D-фенілаланін), Граміцидин С-синтетаза 2 (відповідає за приєднання інших амінокислот (проліну, валіну, орнітину та лейцину) і подовження пептидного ланцюга);
3. пептидна послідовність утворює циклічну структуру граміцидину. Після того, як синтезовано лінійний пентапептид (D-фенілаланіл-L-проліл-L-валіл-L-орнітил-L-лейцил-), дві такі молекули з'єднуються між собою, утворюючи циклічний декапептид — граміцидин С. Ця циклізація також відбувається за участю граміцидин С-синтетази.
4. граміцидин модифікується завдяки додатковим ферментам і виділяється.

Висновок до розділу 2:

Розглянуто характеристику готового продукту. Наведено органолептичні та фізико-хімічні показники та особливості зберігання продукту.

Проведено аналіз сировини та матеріалів, що застосовують для отримання продукту. Визначено основні показники якості сировини та матеріалів для забезпечення стабільності виробничого процесу.

Розглянуто характеристику біологічного агента – штамм *Bacillus brevis*.

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
						25
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

З ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

3.1 Розрахунок матеріального балансу

Таблиця 3.1 – Матеріальний баланс серії виробництва антибіотика
«Граміцидин С, порошок-субстанція»

Найменування	Вміст осн. речовин и, % Волога %	Витрачено та отримано				
		Маса, кг			Об'єм, л	Кількість, шт
		Загальна	Осно вної речо вини	Кг/мо ль		
1	2	3	4	5	6	7
Витрачено на стадії 3. Приготування та стерилізація живильних середовищ.						
<i>А. Сировини:</i>						
Молоко сухе знежирене		0,1050				
Гліцерин		0,1575				
Карбонат кальцію		0,0158				
Вода очищена		10,2217				
бактотриптон		10,1350				
дріжджовий екстракт		10,1350				
D-глюкоза		5,0680				
Калію хлорид (KCl)		64,2560				
Натрію хлорид (NaCl)		12,1620				
Магнію сульфат (MgSO ₄) x 7H ₂ O		2,5340				
Калію фосфат двозаміщений (K ₂ HPO ₄)		1,3180				
Кальцію хлорид (CaCl ₂) x 2 H ₂ O		2,2330				
Калію сульфат (K ₂ SO ₄)		1,7230				
Натрію сульфат (Na ₂ SO ₄)		24,3240				

1	2	3	4	5	6	7
Натрію гідрокарбонат (NaHCO ₃)		5,0680				
Натрію карбонат (Na ₂ CO ₃)		0,9120				
Заліза едетат		0,7200				
Вода очищена		9994,4120				
Всього:		10145,5000				
Отримано на стадії 3.						
<i>Б. Напівпродуктів:</i>						
1. Молочне живильне середовище, в т.ч.		10,4500				
-молоко сухе знежирене		0,1045				
-гліцерин		0,15678				
-карбонат кальцію		0,01567				
-вода очищена		10,1731				
2. Середовище TYG, в т.ч.		1004,3000				
-бактотриптон		10,1249				
-дріжджовий екстракт		10,1249				
-D-глюкоза		5,0630				5,0629575
-Калію хлорид (KCl)		64,1921				64,1920673
-Натрію хлорид (NaCl)		12,1499				12,1498992
-Магнію сульфат (MgSO ₄) x 7H ₂ O		2,5314				2,5314875
-Калію фосфат двозаміщений (K ₂ HPO ₄)		1,3167				1,31668863
-Кальцію хлорид (CaCl ₂) x 2 H ₂ O		2,2308				2,23077824
-Калію сульфат (K ₂ SO ₄)		1,7213				1,72128567
-Натрію сульфат (Na ₂ SO ₄)		24,0820				24,081984

1	2	3	4	5	6	7
-Натрію гідрокарбонат (NaHCO ₃)		5,0630				
-Натрію карбонат (Na ₂ CO ₃)		0,9111				
-Заліза едетат		0,7193				
-вода очищена		9984,4679				
<i>В. Відходів:</i>		-				
<i>Г. Втрат:</i>						
Молоко сухе знежирене		0,0005				
Гліцерин		0,0008				
Карбонат кальцію		0,0001				
Вода очищена		0,0486				
бактотриптон		0,0101				
дріжджовий екстракт		0,0101				
D-глюкоза		0,0050				
Калію хлорид (KCl)		0,0639				
Натрію хлорид (NaCl)		0,0121				
Магнію сульфат (MgSO ₄) x 7H ₂ O		0,0025				
Калію фосфат двозаміщений (K ₂ HPO ₄)		0,0013				
Кальцію хлорид (CaCl ₂) x 2 H ₂ O		0,0022				
Калію сульфат (K ₂ SO ₄)		0,0017				
Натрію сульфат (Na ₂ SO ₄)		0,2420				
Натрію гідрокарбонат (NaHCO ₃)		0,0050				
Натрію карбонат (Na ₂ CO ₃)		0,0009				

1	2	3	4	5	6	7
Заліза едетат		0,0007				
Вода очищена		9,9441				
Всього:		10145,5000				
Витрачено на стадії 4. Підготовка посівного матеріалу.						
<i>Б. Напівпродуктів:</i>						
1. Молочне середовище		10,45				
2. Середовище TYG		1004,30				
<i>А. Сировини</i>						
Штам <i>Bacillus brevis</i> (<i>Brevibacillus parabrevis</i>) ATCC 8185		0,0000054				
Всього:		1014,75				
Отримано на стадії 4.						
<i>Б. Напівпродуктів:</i>						
Посівний матеріал		913,00				
<i>В. Відходів:</i>		-				
<i>Г. Втрат:</i>						
Унесення		91,30				
Технологічні		10,45				
Всього:		1014,75				
Витрачено на стадії 5. Виробниче культивування.						
<i>Б. Напівпродуктів:</i>						
Середовище TYG		9130,0				
Посівний матеріал		913,0				
Всього:		10043,0				
Отримано на стадії 5.						
<i>Б. Напівпродуктів:</i>						
Культуральна рідина		9000,0				
<i>В. Відходів:</i>		-				
<i>Г. Втрат:</i>						
Унесення		1004,3				
Технологічні		38,7				
Всього:		10043,0				

1	2	3	4	5	6	7
Витрачено на стадії 6. Виділення біомаси.						
<i>Б. Напівпродуктів:</i>						
Культуральна рідина		9000,0				
Всього:		9000,0				
Отримано на стадії 6.						
<i>Б. Напівпродуктів:</i>						
Осад		185,0				
<i>В. Відходів:</i>		-				
<i>Г. Втрат:</i>						
Відпрацьована культуральна рідина		8763,0				
технологічні		52,0				
Всього:		9000,0				
Витрачено на стадії 7. Виділення грамїцидину С.						
<i>Б. Напівпродуктів:</i>						
Осад		185,0				
Розчин 150 мМ хлориду натрію, 20 мМ соляної кислоти		185,0				
Етанол		370,0				
Всього:		740,0				
Отримано на стадії 7.						
<i>Б. Напівпродуктів:</i>						
Екстракт з грамїцидином		739,5				
<i>В. Відходів:</i>						
<i>Г. Втрат:</i>						
Технологічні		0,5				
Всього:		740,0				
Витрачено на стадії 8. Отримання сухого грамїцидину С.						
<i>Б. Напівпродуктів:</i>						
Екстракт з грамїцидином		739,5				
Розчин хлориду натрію 10 %		185,0				
Всього:		924,5				

1	2	3	4	5	6	7
Отримано на стадії 8.						
<i>Б. Напівпродуктів:</i>						
Кристали граміцидину С		15,2				
<i>В. Відходів:</i>						
<i>Г. Втрат:</i>						
Волога (випаровування при сушці)		901,3				
Технологічні та на контроль		8,0				
Всього:		924,5				
Витрачено на стадії 9. Пакування, маркування та відвантаження готової продукції.						
<i>Б. Напівпродуктів:</i>						
Кристали граміцидину С		15,2				
<i>В. Матеріали:</i>						
Пакети						16
Всього:		15,2				16
Отримано на стадії 9.						
<i>А. Готового продукту:</i>						
Порошок-субстрат Граміцидин С у пакетах по 1 кг		15,0				15
<i>В. Відходів:</i>		-				
<i>Б. Втрат:</i>						
Порошок- субстанція		0,2				
Алюмінієві або пластикові пакети						1
Всього:		15,2				16

3.2 Розрахунок і вибір основного та допоміжного обладнання

3.2.1. Ваги електронні КП 1, КП 10.

На вагах КП 1 зважують питну воду, 36 % соляної кислоти, наважку хлориду натрію, бактотриптон, дріжджовий екстракт, D-глюкозу, калію хлорид, натрію хлорид, натрію сульфат та натрію гідрокарбонат.

Ваги КП 1 – електронні, марка ВПД-405Д-60, снабжені РК-дисплеєм. Діапазон зважування 0,4-60 кг. Ціна поділу 20 г. Потужність 0,25 Вт. Розмір платформи, мм 400x500. Габаритні розміри, мм: 260x287x119. [22]

На вагах КП10 зважують наважку 36 % соляної кислоти, 105 г молока сухого знежиреного, 157,5 г гліцерину, 15,75 г кальцію карбонату, магнію сульфат, калію фосфат двозаміщений, кальцію хлорид, калію сульфат, натрію карбонат, заліза едетат.

Ваги КП 10 – електронні, марка SW-20, снабжені РК- дисплеєм. Діапазон зважування 0,1 -20 кг. Ціна поділу 20 г. Потужність 0,25 Вт. Розмір платформи, мм 241x192. Габаритні розміри, мм: 260x287x119. [22]

Отже, ваги, які використовуємо, мають необхідний рівень точності та дозволяють зважувати наважки за одне зважування.

3.2.2. Нутч-фільтр Ф 40.

Нутч-фільтр Ф 40 використовують для відокремлення осаду реакційної суміші. Об'єм рідини, яку треба пропустити через фільтр – 925 кг (близько 947 л), продуктивність фільтру 800 л/год. З підйомним днищем для полегшення видалення осаду. Тиск, МПа: від -0,1 до +0,1. Температурний діапазон, °С: від -60 до +200. Фільтрувальна перегородка: розмір пір 8–115 мікрон. [22]

Тривалість роботи фільтрів:

$$947 : 800 = 1,18375 \text{ год.}$$

Кількість фільтрів розраховуємо за формулою 4.1 [26]:

$$N = \frac{M_{\text{зм}}}{T_{\text{эф.р.}} \cdot m} \quad (4.1)$$

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		32

де N – кількість апаратів, ліній, од; $M_{зм}$ – кількість сировини, що перероблюється, продукту, що виробляється на операції за зміну, кг; $T_{\text{еф.р.}}$ – ефективний час роботи апарату за зміну, год; m – годинна продуктивність апарату, кг/год.

$$N_{\Phi 12} = 947 / (1,18375 * 800) = 1 \text{ од.}$$

Тобто наявності 1 одиниці такого фільтру достатньо для проведення фільтрації на операції.

3.2.3 Реактор (ферментер) Р 45.

Здійснюється культивування маткових культур для отримання культуральної рідини та біомаси для подальшого розділення та отримання потрібного для виробництва продукту ферментації. Ферментер об'ємом 200 л. Виконаний з легованої сталі, має сорочку для підтримки оптимальної температури культивування. Максимальний тиск 3,0 МПа, Максимальна температура 132 °С для ємкості та 155 °С для сорочки. Кількість: 1 шт. [22]

Проведемо розрахунок необхідної кількості ферментерів для виробництва однієї серії.

Завантаження ферментеру має бути 70 % (коефіцієнт 0,7).

$$200 * 0,7 = 140 \text{ л.}$$

Об'єм завантаження реактору для виробництва серії 137,5 л.

Таким чином, 1 реактору достатньо для виробництва вказаної серії.

3.2.4. Реактор для приготування живильного середовища Р 17

В реакторі Р 17 проводять приготування молочного живильного середовища. Ємність реактора Р 17 - 20 л.

Як для апаратів періодичної дії [26]:

$$N = M_{зм} / V * K_{ц} * T_{ц} \quad (4.5)$$

де N – кількість апаратів, ліній, од; $M_{зм}$ – кількість сировини, що перероблюється, продукту, що виробляється, на операції на зміну, л; V – робоча ємність апарату, л; $K_{ц}$ – кількість циклів роботи апарату за зміну; $T_{ц}$ – тривалість циклу (затрати часу на проведення операцій в апараті), год.

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		33

$$N_{P17} = 13/20 \cdot 1 \cdot 2,5 = 0,30$$

Продуктивність 1 реактора Р 17 достатня для виробництва вказаної серії.

Визначення розрахункового коефіцієнту:

$$K_{\text{еф.вик.}} = (T_{\text{ф.р.}} + T_{\text{п.з.}}) / T_{\text{зм.}} \quad (4.6)$$

де $K_{\text{еф.вик.}}$ – коефіцієнт ефективності використання обладнання; $T_{\text{ф.р.}}$ – фактичний час роботи, обладнання, год; $T_{\text{п.з.}}$ – час на підготовчо-заготівельні операції обладнання (зборка, вихід на режим роботи, розбирання та мийка, год; $T_{\text{зм.}}$ – тривалість зміни, год.

$$K_{\text{еф.вик.}} = (0,5 + 2) / 8 = 0,3$$

Таким чином кількість обраного обладнання підібрана вірно, що відповідає наведеній специфікації.

3.2.3. Розрахунок основного апарату – Автоматичний ферментер ФА-200.

Автоматичний ферментер ФА-200 об'ємом 200 літрів призначений для культивування бактеріальних культур у стерильних умовах, забезпечуючи точний контроль параметрів процесу ферментації. Його конструкція відповідає вимогам GMP та забезпечує ефективне перемішування, аерацію, контроль температури, рН та розчиненого кисню.

Основні характеристики [22, 31]:

1. Номінальний об'єм резервуару становить 200 літрів, з коефіцієнтом заповнення 70%. Циліндр виготовлений з нержавіючої сталі SUS316L, оболонка — з SUS304. Внутрішня поверхня полірується до шорсткості $<Ra0,4$, зовнішня — до $<Ra0,6$.
2. Резервуар має співвідношення діаметра до висоти 1:2,7. Дно резервуару оснащено спеціальним нижнім мембранним клапаном без мертвих зон, що дозволяє ефективно здійснювати стерилізацію та відбір культури. Кришка резервуару обладнана оглядовим дзеркалом, захисною лампою, портами для піногасника, подачі, інокуляції та вихідним портом.

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		34

3. Система підтримує автоматичну стерилізацію парою під високим тиском (SIP) з керуванням через програму одним натисканням, використовуючи пневматичний кутовий клапан. Також передбачено автоматичний контроль тиску в баку за допомогою швейцарського датчика тиску та німецького пневматичного клапана Burkert.
4. Механічне перемішування здійснюється через верхній привід з використанням механічного ущільнення Borgmann, що забезпечує герметичність та безпеку процесу.
5. Система включає двошарову лопать з прямими лезами, одношарову лопать з похилими лезами та піногасну лопать типу механічного стиснення. Висота лопатей регулюється, що дозволяє адаптувати процес перемішування до специфіки культури.
6. Використовується двигун змінного струму SEW потужністю 2,2 кВт з частотним перетворювачем Fuji, що забезпечує плавне регулювання швидкості в діапазоні 50–600 об/хв з точністю ± 1 об/хв.
7. PID-інтелектуальне керування дозволяє автоматично підтримувати заданий рівень рН шляхом додавання кислоти або лугу через двосторонній перистальтичний насос. Калібрування електрода здійснюється автоматично за допомогою системного програмного забезпечення без потреби в передавачі, що забезпечує високу точність та відсутність відхилень.

Переваги автоматичного ферментера ФА-200 [31]:

- Система оснащена автоматичним контролем параметрів: температури, рН, тиску, рівня розчиненого кисню, піноутворення, стерилізації (SIP), тим самим знижує ризик людської помилки та підвищує стабільність процесу.
- Завдяки SIP-стерилізації та використанню гігієнічних клапанів і високоякісних ущільнень (Borgmann), забезпечується повна біобезпека і відсутність контамінації.

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		35

- Виготовлення з нержавіючої сталі SUS316L (внутрішня частина) та SUS304 (зовнішня оболонка) гарантує хімічну стійкість, довговічність і легкість очищення.

- Високоточні датчики (Hamilton, Burkert, Fuji) та PID-регулювання забезпечують мінімальні коливання параметрів, що критично для вирощування чутливих бактеріальних штамів.

-Зручне розташування люків, портів, сенсорів і елементів управління спрощує щоденну експлуатацію та технічне обслуговування.

Ці переваги роблять ферментер ідеальним рішенням для біотехнологічних виробництв, де потрібна висока продуктивність, надійність та контроль якості продукції.

Таблиця 3.2 - Таблиця штуцерів автоматичного ферментера ФА-200.

Позначення	Призначення
1	2
А	Люк
Б	Технологічний, для КВП, запобіжних пристроїв
В	Гільза термометра
Г	Запасний
Д	Спуск конденсату або вхід води
Е	Спуск конденсату або розсолу
Ж	Вхід пари, вихід води або розсолу
И	Випуск продукту
К	Введення мастильного матеріалу або замикаючої рідини
Л	Виведення охолоджуючої рідини
М	Виведення охолоджуючої рідини
Н	Технологічний
О	Вікно оглядове

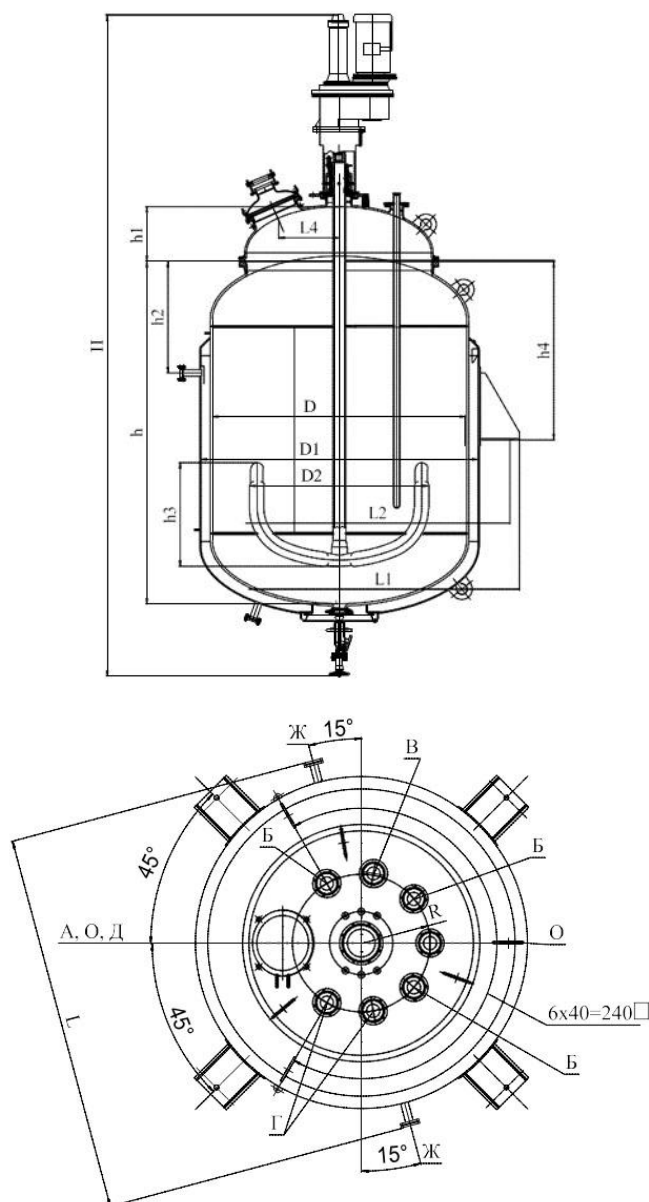


Рис. 3.1 – Загальний вигляд автоматичного ферментера ФА-200.

Таблиця 3.3 – Технічні характеристики автоматичного ферментера ФА-200.

Робочий об'єм, м3	10,0
Об'єм сорочки, м3	1,32
Маса апарату, кг	7297
Тип приводу	B200/2-11-50-2П
Марка Е/Д	АИМ132 М4
Потужність Е/Д, кВт	11,0
n, об/хв	50
Тиск у корпусі, МПа	0,3

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

162.01.10.00 000 ПЗ

Арк.

37

Тиск у сорочці, МПа	0,4
D, мм	2200
D1, мм	2400
D2, мм	1550
H, мм	7297
h, мм	2975
h ₁ , мм	470
h ₂ , мм	970
h ₃ , мм	900
h ₄ , мм	1550
L, мм	2750
L ₁ , мм	3118
L ₂ , мм	2988
L ₃ , мм	-
L ₄ , мм	530
R, мм	



Рис. 3.2 – Загальний вид автоматичного ферментера ФА-200.[31]

3.3 Опис технологічного процесу

Виробництво антибіотика граміцидин по 1 кг організоване за технологічною схемою, яка містить такі основні стадії [24, 25, 32]:

Стадія 1. Санітарна підготовка виробництва.

Стадія 2. Приготування і стерилізація допоміжних розчинів.

Стадія 3. Приготування та стерилізація живильних середовищ.

Стадія 4. Підготовка посівного матеріалу.

Стадія 5. Біосинтез.

Стадія 6. Відділення біомаси.

Стадія 7. Виділення граміцидину С.

Стадія 8. Отримання сухого граміцидину С.

Стадія 9. Пакування, маркування та відвантаження готової продукції.

Стадія 1. Санітарна підготовка виробництва.

На даному етапі проводиться санітарна підготовка виробничих приміщень, обладнання, а також готуються мийні та дезінфікуючі розчини. Зокрема, здійснюється генеральне та щоденне прибирання, миття та стерилізація обладнання, перевірка герметичності, технічний огляд, а також приготування розчинів для миття й дезінфекції.

Проводять підготовку аераційного повітря. Атмосферне повітря проходить багатоступеневу підготовку перед подачею до ферментерів: очищення від пилу та грубих часток, стиснення, охолодження з видаленням вологи, нагрівання та фільтрація на основних і стерильних фільтрах.

Проведену санітарну підготовку приміщень класів чистоти С та D контролюють відповідно до вимог Настанови СТ-Н МОЗУ 42-4.0/1:2023 [24] та згідно з СРМ (СОП) за показниками: забрудненість повітря механічними частинками та контроль мікробної контамінації повітря (К 1.1.1), мікробіологічна чистота технологічного обладнання та інвентарю (К 1.1.2), мікробну контамінацію технологічного одягу працівників «чистих

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
						39
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

приміщень» (К 1.1.3), чистоту рук (рукавичок) персоналу, що працює у виробничих приміщеннях» (К 1.1.4). Результати контролю фіксують у протоколах та відповідних журналах.

Стадія 2. Приготування і стерилізація допоміжних розчинів.

Операція 2.1. Приготування розчину HCl.

На вагах КП 1 у збірниках З 2 та З 3 зважують 33,54 кг питної води і 6,86 кг 36 % соляної кислоти, та вносять у збірник З 4 на 50 л та отримують 40,4 кг 6 % хлористоводневої кислоти. Перемішують протягом 5 хвилин. Контролюють вагу компонентів та отриманого розчину, тривалість перемішування. (К 2.1.1)

Стерилізують пропусканням через фільтр Ф 5, заряджений фільтраційними мембранами з діаметром пор 0,8 мкм (передфільтр) та 0,2 мкм під тиском 0,1 МПа. Контролюють рейтинг пор, тиск (К 2.1.1). [24]

Операція 2.2. Приготування та стерилізація розчину NaOH.

В збірнику З 6 на вагах КП 1 зважують 35,96 л питної води, переносять її у збірник З 8 на 50 л. В збірнику З 7 на вагах КП 1 зважують 4,04 кг гідроксиду натрію та завантажують у З 8 при включеній мішалці, уникаючи розбризкування. Перемішують 5 хв. Контролюють вагу компонентів та отриманого розчину, тривалість перемішування. (К 2.2.1)

Отриманий розчин стерилізують в цьому ж збірнику при температурі 131 °С 40 хв. (К 2.2.1) [24]

Операція 2.3. Підготовка розчину 150 мМ хлориду натрію, 20 мМ соляної кислоти.

Для приготування 185 кг розчину 150 мМ хлориду натрію, 20 мМ соляної кислоти у реактор Р 12 робочим об'ємом 200 л вносять 183 л питної води та при перемішуванні додають зважену за допомогою ваг КП 1 в збірнику З 9 наважку хлориду натрію 1,61 кг і зважену на вагах КП 10 в

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		40

збірнику 3 11 наважку 370 г 36% соляної кислоти. Перемішують ще 10-15 хв та отримують розчин. Контролюють вагу компонентів та отриманого розчину, тривалість перемішування. (К 2.3.1) [24]

Операція 2.4. Підготовка етанолу.

Для приготування екстрагенту в реактор Р 13 насосом Н 14 подають 370 кг етанолу (К 2.4.1). Реактор забезпечений вогнеперешкодою і лінією інертного газу, піддоном для локалізації можливого розливу. Перед завантаженням етанолу реактор продувають інертним газом згідно з правилами техніки безпеки при роботі з легкозаймистими речовинами. [23]

Операція 2.5. Підготовка 10 % розчину хлориду натрію.

Для приготування 185 кг 10 % розчину хлориду натрію зважують на вагах КП 1 в збірнику 3 15 наважку 18,5 кг натрію хлориду. У реактор 3 16 завантажують 166,5 кг питної води, вмикають мішалку та завантажують наважку натрію хлориду. Далі перемішують 10-15 хв та отримують розчин.

Контролюють вагу компонентів та отриманого розчину, тривалість перемішування. (К 2.5.1) [23]

Стадія 3. Приготування та стерилізація живильних середовищ.

Операція 3.1. Приготування і стерилізація молочного живильного середовища.

Склад молочного живильного середовища, г/л:

- молоко сухе знежирене 10,0
- гліцерин 15,0
- карбонат кальцію 1,5
- вода очищена решта

Таке середовище підходить для культивування початкових генерацій бактерій, оскільки казеїн молока забезпечує білкове живлення, гліцерин –

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		41

джерело вуглецю, а карбонат кальцію підтримує оптимальний рН і стабілізує середовище [24, 27, 28].

На цьому середовищі культивують перші генерації (початкові посіви), щоб забезпечити активний ріст і накопичення біомаси. Після отримання достатньої кількості клітин на казеїново-гліцериновому середовищі переходять на більш поживне середовище, наприклад, триптоно-дріжджове, яке містить пептони та дріжджовий екстракт і забезпечує кращі умови для масового росту та підтримки культури в подальших генераціях.

Для підготовки посівного матеріалу генерацій I-III для виробництва серії необхідно 10,5 л молочного живильного середовища. Для його приготування на вагах КП 10 в маркованих ємностях зважують 105 г молока сухого знежиреного, 157,5 г гліцерину та 15,75 г кальцію карбонату. Потім наважки поміщають у реактор Р 17 об'ємом 20 л та перемішують до однорідності. Контролюють рН середовища - має бути 7,0, при необхідності корегують розчином натрію гідроксиду або кислоти соляної. Контролюють рН, вагу компонентів та отриманого розчину, тривалість перемішування. (К 3.1.1)

Закривають кришку реактора, подають пару в сорочку проводять стерилізацію при температурі 112 °С 30 хв, тиск 0,5 МПа протягом 30 хв. (К 3.1.2.)

Операція 3.2. Приготування модифікованого середовища з глюкозою (TYG Medium).

Склад середовища TYG - бульйон з триптоном та дріжджовим екстрактом, та склад середовища на серію наведено в таблиці 3.4:

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
						42
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Склад компонентів середовища TYG

Назва компоненту	Кількість	
	На 1 л, г	На серію 10135 л, кг
бактотриптон	1,00	10,135
дріжджовий екстракт	1,00	10,135
D-глюкоза	0,50	5,068
Калію хлорид (KCl)	6,34	64,256
Натрію хлорид (NaCl)	1,20	12,162
Магнію сульфат (MgSO ₄) x 7H ₂ O	0,25	2,534
Калію фосфат двозаміщений (K ₂ HPO ₄)	0,13	1,318
Кальцію хлорид (CaCl ₂) x 2 H ₂ O	0,22	2,233
Калію сульфат (K ₂ SO ₄)	0,17	1,723
Натрію сульфат (Na ₂ SO ₄)	2,40	24,324
Натрію гідрокарбонат (NaHCO ₃)	0,50	5,068
Натрію карбонат (Na ₂ CO ₃)	0,09	0,912
Заліза едетат	0,07	0,72
вода очищена	решта	решта

Триптон та дріжджовий екстракт забезпечують азотисті сполуки, вуглець, сірку, комплекс вітамінів групи В та мікроелементи, необхідні для бактеріального метаболізму. Глюкоза є вуглеводним джерелом.

Для підготовки посівного матеріалу генерацій IV-V та для основного культивування необхідно 10124 л живильного середовища TYG. З урахуванням технологічних втрат (1 %) на отриманні IV та V генерацій кількість, яку треба приготувати – 10135 л. Для оптимізації приготування середовища здійснюють попереднє розчинення компонентів з невеликими кількостями. Використовують реактор Р 18 об'ємом 200 л, в який подають

воду очищену з дільниці водопідготовки в кількості 100 ± 10 кг. На вагах КП 10 в маркованих ємностях зважують магнію сульфат, калію фосфат двозаміщений, кальцію хлорид, калію сульфат, натрію карбонат та заліза едетат в кількостях, вказаних в табл. 3.1. [24]

Наважки поміщають у реактор Р 18 та перемішують до розчинення. Допускається підігрів для швидкості розчинення до температури 55 ± 5 °С. Контролюють вагу компонентів, повноту розчинення (візуально) та тривалість перемішування. (К 3.1.1)

В реактор Р 27 подають воду очищену з дільниці водопідготовки в кількості 5000 ± 500 кг. На вагах КП 1 в маркованих ємностях З 20 – З 26 зважують бактотриптон, дріжджовий екстракт, D-глюкозу, калію хлорид, натрію хлорид, натрію сульфат та натрію гідрокарбонат в кількостях, вказаних в табл. 3.1. Наважки завантажують у реактор Р 20 при включеній мішалці та перемішують до розчинення 20-25 хв. Контролюють вагу компонентів, повноту розчинення (візуально) та тривалість перемішування. (К 3.1.2)

За допомогою насоса Н 19 перекачують розчин солей з реактора Р 18 в реактор Р 27. Вмикають мішалку та подачу води очищеної з дільниці водопідготовки до загальної ваги середовища 10135 кг. Перемішують 30-40 хв. Контролюють вагу середовища та тривалість перемішування (К 3.1.3)

Операція 3.3. Стерилізація модифікованого середовища з глюкозою (TYG Medium).

Стерилізацію модифікованого середовища з глюкозою (TYG Medium) здійснюють безперервним способом в установці ГФ 28.

Установка для безперервної стерилізації середовищ марки УНС-5 складається з приймальної ємності для нестерильного живильного середовища, насосу, що забезпечує подачу середовища в систему, нагрівача-стерилізатора для нагрівання до температури стерилізації, витримувала колонного типу для підтримання температури стерилізації та теплообмінника

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		44

для зниження температури стерильного середовища до оптимальної для засівання. Забезпечує три етапи обробки: нагрівання, витримування, охолодження. Установка має систему автоматичного керування та контролю температури, тиску та часу обробки.

Установка забезпечує мінімальну деструкцію компонентів середовища завдяки короткій експозиції при високих температурах. [27]

Режим стерилізації середовища: температура 121 °С з часом витримки 15 хвилин, що забезпечує стерильність при мінімальному утворенні продуктів деградації глюкози та є фармакопейним режимом. Охолоджують до температури 40±3 °С. (К 3.3.1)

Охолоджене стерилізоване середовище збирають у реакторі Р 29, де зберігають до використання, підтримуючи температуру 40±3 °С. (К 3.3.2)

Стадія 4. Підготовка посівного матеріалу.

Операція 4.1. Вирощування культури на агаризованому середовищі (генерація I).

Ізольовані колонії виробничого штаму *Bacillus brevis* (*Brevibacillus parabrevis*) ATCC 8185 пересівають в пробірки зі скошеним агаризованим середовищем NBYS (одна ізольована колонія використовується для засіву однієї пробірки). В пробірки пересівають ізольовані колонії, що знаходяться на відстані не менше 1 см. Тривалість вирощування – 48 год, температура 40 °С. (К 4.1.1)

Операція 4.2. Вирощування культури в колбах на качалках (генерація II).

Для отримання II генерації посівного матеріалу у 6 колб Ерленмейєра об'ємом 750 мл додають в асептичних умовах стерильне молочне живильне середовище з реактора Р 17 по 150±2 мл. Загальна кількість середовища – 914 мл. (К 4.2.1)

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
						45
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

У кожен колбу вносять посівний матеріал з пробірок з агаризованим середовищем, на яких є колонії продуцента, отриманих на операції 4.1. Параметри культивування: температура 37 °С, тривалість 24 години. Отримують 910 мл посівної культури II генерації (К 4.2.2)

Операція 4.3. Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 20 л (генерація III).

У стерильний ферментер Ф 30 місткістю 20 л подають самопливом в асептичних умовах стерильне молочне живильне середовище з реактора Р 17 в кількості 9,13 кг та додають посівний матеріал з попередньої стадії в кількості 0,91 кг і починають процес культивування за такими параметрами: температура 37 °С, тривалість 24 год, кількість обертів мішалки – 160 об/хв. (К 4.3.1)

Отримують 9,13 кг посівної культури III генерації (К 4.3.2). Далі його подають до наступної операції. [27,28]

Операція 4.4. Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 200 л (генерація IV).

У стерильний ферментер Ф 31 об'ємом 200 л додають з дотриманням асептичних умов насосом Н 32 стерильне середовище ТУГ в кількості 91,3 кг та посівну культуру III генерації з ферментеру Ф 30 за допомогою труби перетискування, і починають процес культивування за такими параметрами: температура 37 °С, тривалість 48 год, кількість обертів мішалки – 160 об/хв. (К 4.4.1)

Отримують 91,3 кг посівної культури IV генерації (К 4.4.2). Далі його подають до наступної операції.

Операція 4.5. Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 2 м³ (генерація V).

У стерильний ферментер Ф 33 об'ємом 2000 л додають з дотриманням асептичних умов насосом Н 32 стерильне середовище ТУГ в кількості 913 кг

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		46

та посівну культуру IV генерації з ферментеру Ф 31, і починають процес культивування за такими параметрами: температура 37 °С, тривалість 48 год, кількість обертів мішалки – 160 об/хв. (К 4.5.1)

Отримують 913 кг (0,913 м³) посівної культури V генерації (К 4.5.2). Далі його подають для засіву основного ферментеру на стадію 5. Біосинтез. [27]

Стадія 5. Біосинтез.

Операція 5.1. Виробниче культивування.

Виробниче культивування здійснюють у ферментері Ф 35 з робочим об'ємом 20 м³. У стерильний ферментер Ф 35, в асептичних умовах вносять 9,130 м³ стерильного середовища TYG з реактору Р 29, і посівний матеріал через трубу перетиснення, з посівного апарата Ф 33 на 2000 л (кількість 0,913 м³). (К 5.1.1).

Під час процесу культивування підтримання концентрації розчиненого кисню на рівні 40–50 % від насичення повітрям. Тривалість культивування 48 год. Вирощують культуру до середини стаціонарної фази росту, рН = 7, температура культивування 37 °С. (К 5.1.2)

Кожні 6 годин відбирають проби для аналізу процесу ферментації. Процес ферментації триває 48 години, остаточна зупинка відбувається, коли буде досягнута максимальна концентрація граміцидину С – 1,5 г/л. (К 5.1.3)

Після закінчення біосинтезу культуральну рідину насосом Н 34 передають на стадію 6. Відділення біомаси. [7, 28]

Стадія 6. Відділення біомаси.

Операція 6.1. Суперцентрифугування.

Культуральну рідину з ферментера Ф 35 після завершення біосинтезу подають відцентровим насосом Н 34 до суперцентрифуги ГФ 36, яка забезпечує ефективне та безпошкоджувальне розділення клітинної маси від культуральної рідини, можливість безперервної роботи, забезпечена системою автоматичного видалення осаду.

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		47

Відділення біомаси та граміцидину С від культуральної рідини відбувається при кількості об/хв. 3600, силі центрифуги - 3850 g, тривалість 15 хв. (К 6.1.1)

Фугат збирають у збірники та передають на утилізацію. Згущена біомаса (осад) збирають у збірник пересувний З 37, фіксують вагу (К 6.1.2) та передають на стадію 7. [28]

Стадія 7. Виділення граміцидину С.

Операція 7.1. Попередня підготовка осаду.

Після суперцентрифугування 185 кг осаду переносять насосом Н 38 у реактор Р 39 для попередньої підготовки, де попередньо насосом Н 14 завантажено 185 кг розчину 150 мМ хлориду натрію, 20 мМ соляної кислоти з реактора Р 12 (з операції 2.3). Вмикають мішалку на 48 об/хв, в парову сорочку подають глуху пару для підйому температури до 80 °С, тривалість витримки при цій температурі – 15 хв. (К 7.1.1)

Після підготовки суміш охолоджують для екстракції до температури 20±5 °С. (К 7.1.2)

Операція 7.2. Екстракція граміцидину С.

Підготовлену на операції 7.1 суспензію у кількості 370 кг екстрагують в цьому ж реакторі Р 39 об'ємом 1 м³. Для цього відцентровим насосом Н 14 подають 370 кг екстрагента етанолу від збірника Р 13 та проводять екстракцію 1 годину при кімнатній температурі. (К 7.2.1)

Після екстракції екстракт оброблюють на стадії 8. Отримання сухого граміцидину С. [28]

Стадія 8. Отримання сухого граміцидину С.

Операція 8.1. Нагрівання суспензії.

До екстракту в реакторі Р 39 додають при перемішуванні 185 кг 10 % розчину хлориду натрію з реактора З 16 насосом Н 14, нагрівають до

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
						48
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

температури 55-65 °С подачею глухої пари, вмикають перемішуючий пристрій та перемішують 5-10 хв. (К 8.1.1)

Операція 8.2. Охолодження суспензії.

Після процесу нагрівання суспензію охолоджують до температури 5 °С подачею розсолу в сорочку реактора Р 39, щоб створити перенасичення та витримують до утворення кристалів приблизно 30-40 хв. (К 8.2.1)

Реакційну суміш після кристалізації перекачують відцентровим насосом Н 34 на операцію 8.3 для фільтрації. [28]

Операція 8.3. Фільтрація на нутч-фільтрі.

Подають 925 кг реакційної суміші з операції 8.2 на нутч-фільтр Ф 40 з діаметром пор 150 мкм. Робочий тиск процесу фільтрації (вакуум) 0,05 МПа). (К 8.3.1)

Фільтрат збирають у збірники та передають на утилізацію. [29]

Після фільтрації отримують 16,30 кг кристалічного вологого осаду, який направляють на висушування. (К 8.3.2)

Операція 8.4. Висушування осаду.

Отримані 16,30 кг вологого осаду граміцидину С висушують в сушарці з киплячим шаром ГФ 41. Для сушки вологий подають у бункер сушарки з киплячим шаром на решітку. Параметри процесу задають через людино-машинний інтерфейс (НМІ), після чого процес запускають. Система обробки повітря фільтрує та нагріває його до температури 120 °С та подає під решітку, що забезпечує швидке випаровування вологи при розрідженні матеріалу гарячим повітрям. Після завершення процесу матеріал виштовхується і потрапляє на конусний млин для вивантаження, що мінімізує пил і перехресне забруднення. Контроль режимів сушіння: температура повітря на вході до 60 °С, грануляція триває 50-55 хв, сушіння

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		49

— 90-95 с, температура продукту — не вище 41 ± 1 °С. Вміст грамїцидину С в сухому продукті 95 %. (К 8.4.1)

Операція 8.5. Подрібнення на кульовому млині та просіювання на віброситі.

Кристали висушеного порошку грамїцидину С подрібнюють 10-15 хв на кульовому млині ГФ 42 з розміром кульок 20 мм. Після кристали просіють на вібраційному ситі ГФ 44. Просіяний порошок грамїцидину С направляють на стадію пакування. (К 8.5.1)

Стадія 9. Пакування, маркування та відвантаження готової продукції.

Фасування порошку грамїцидину С здійснюють на напівавтоматичному пакувальному апараті з дозатором ГФ 44. Обладнання фасує продукт у пластикові або алюмінієві пакети по 1 кг кожний.

Подача порошку відбувається шнековим механізмом із ворошителем у бункері. Оператор встановлює пакет, натискає педаль, і дозатор автоматично наповнює його точною порцією. Параметри дозування налаштовують з пульта управління, який відображає масу дози та сумарну масу. Система забезпечує точність дозування незалежно від змін напруги, температури чи вологості продукту. Маса пакета періодично контролюється. (К 9.1.1)

Кожен пакет маркують етикеткою українською мовою з інформацією про виробника, назву препарату, вміст антибіотика, масу нетто, дату виготовлення, умови зберігання, номер серії і термін придатності. Пакети групують у ящики на столі ГФ 45.

Від кожної серії беруть проби для контролю відповідно до МКЯ. При позитивних результатах продукцію відправляють на склад. Якщо контроль не відповідає вимогам, перевірку повторюють на подвоєній кількості зразків. При повторних невідповідностях серію бракують. [31]

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		50

3.4 Схеми виробництва (зі специфікацією обладнання)

Біологічну схему виробництва наведено на рис. 3.3.

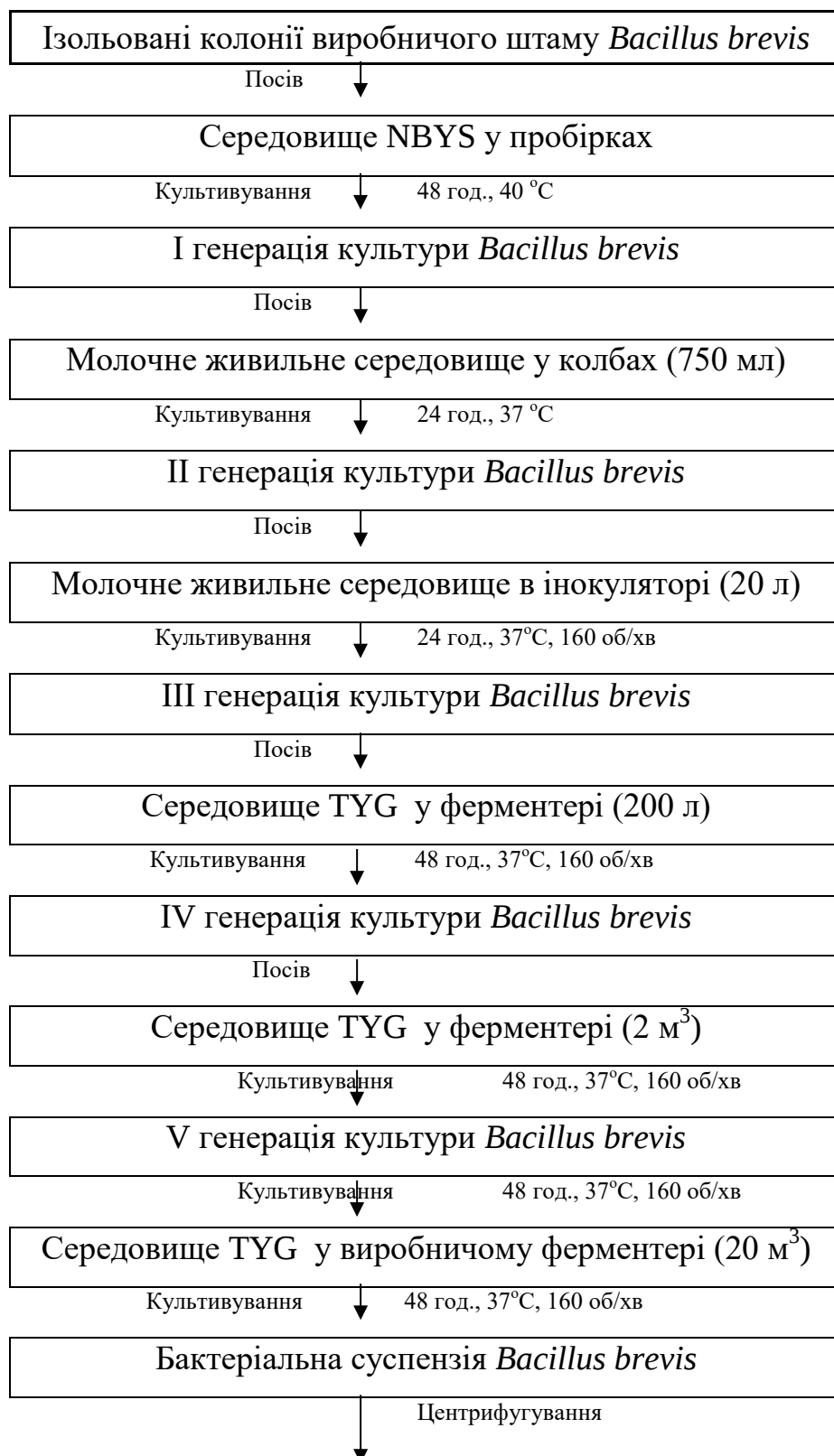
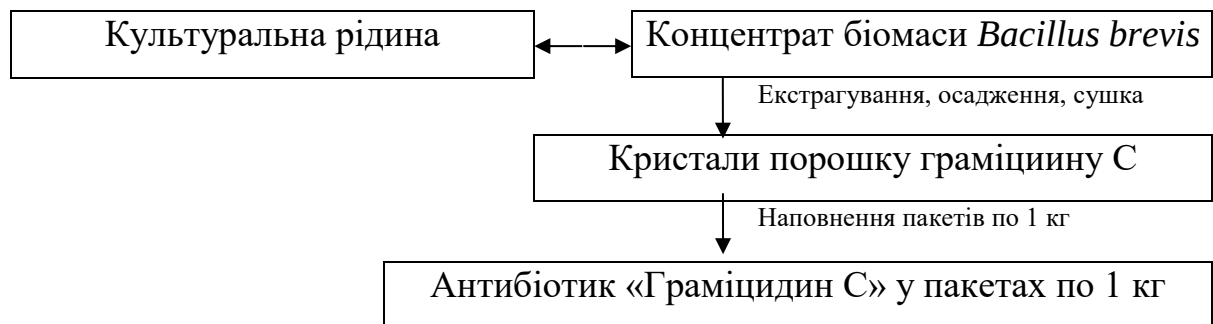


Рис 3.3. – Біологічна схема виробництва антибіотику «Грамідин С, порошок-субстанція» по 1 кг.



Продовження рис. 3.3 - Біологічна схема виробництва антибіотику «Грамідин С, порошок-субстанція» по 1 кг.

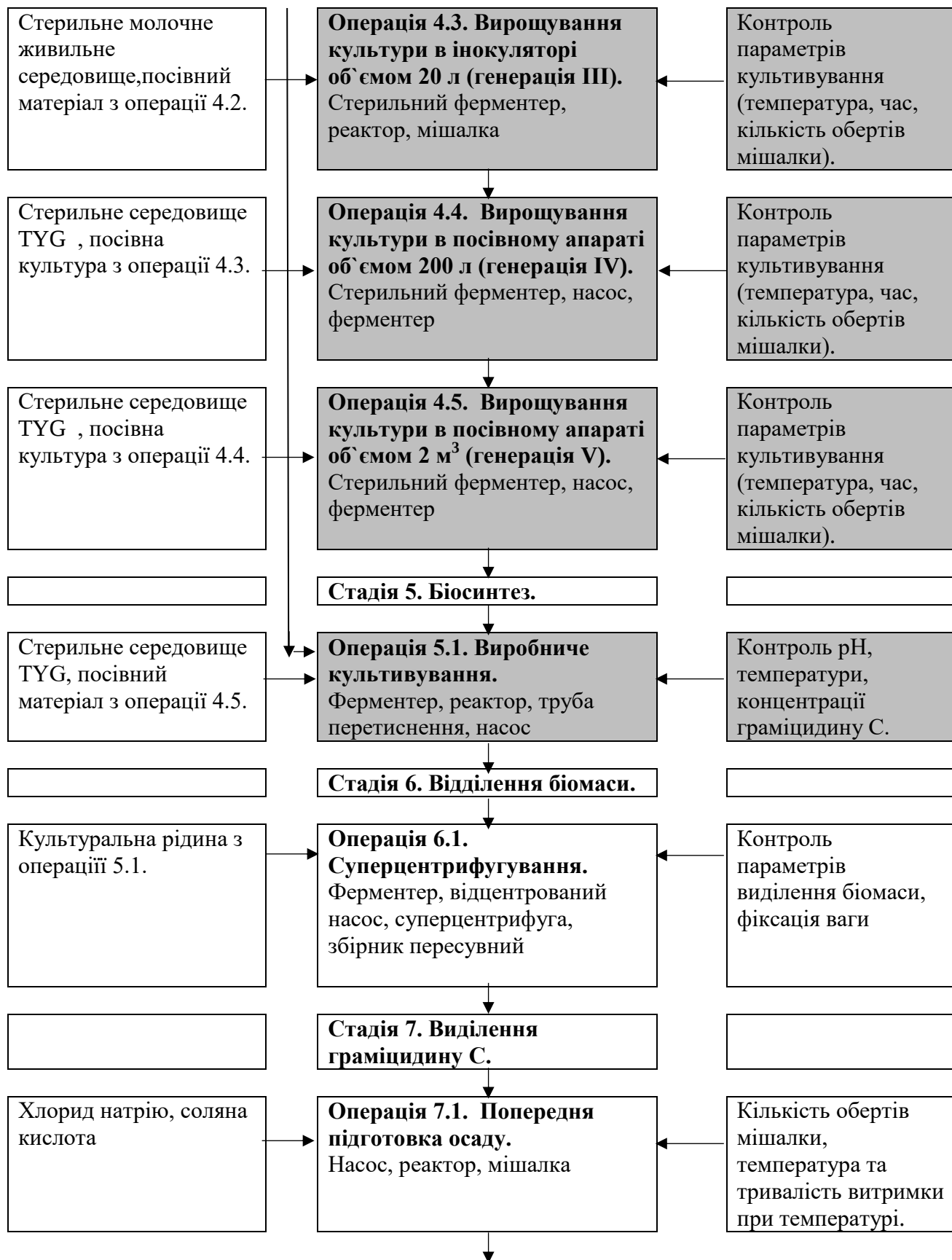
Технологічну схему виробництва антибіотику «Грамідин С, порошок-субстанція» по 1 кг наведена на рис. 3.4



Рис. 3.4 - Технологічна схема виробництва антибіотику «Грамідин С, порошок-субстанція» по 1 кг



Продовження рис. 3.4 - Технологічна схема виробництва антибіотику «Граміцидин С, порошок-субстанція» по 1 кг.



Продовження рис. 3.4 - Технологічна схема виробництва антибіотику
«Грамідин С, порошок-субстанція» по 1 кг.



Продовження рис. 3.4 - Технологічна схема виробництва антибіотику
«Граміцидин С, порошок-субстанція» по 1 кг.

Апаратурну схему виробництва антибіотику «Граміцидин С, порошок-субстанція» по 1 кг, наведено на рис. 3.5.

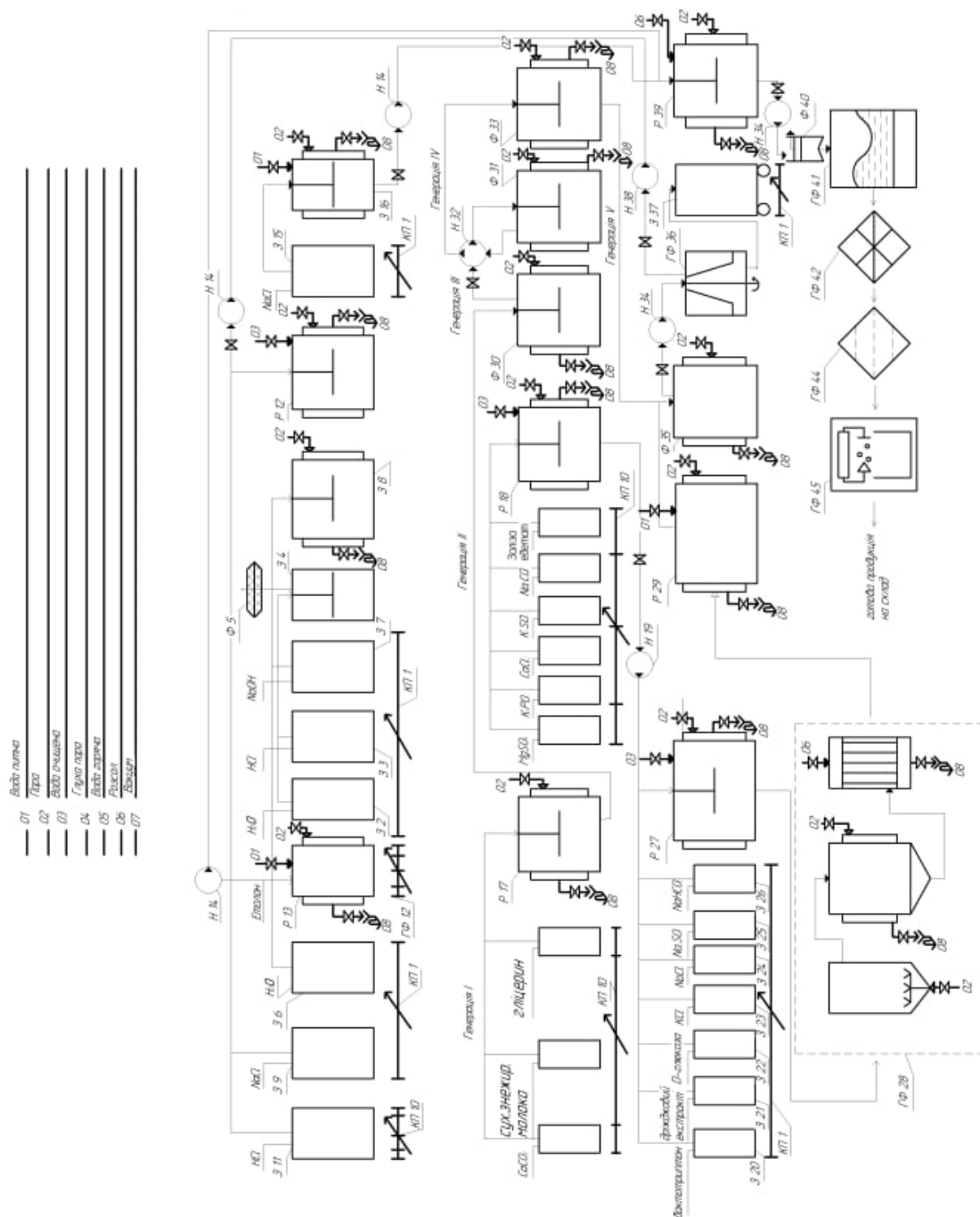


Рис. 3.5 – Апаратурна схема виробництва антибіотику «Граміцидин С, порошок-субстанція» по 1 кг.

Специфікація обладнання, яке використовується у виробництві антибіотика грамїцидин по 1кг представлена у таблиці 3.5.

Таблиця 3.5 – Специфікація обладнання ділянки з виробництва антибіотика Грамїцидин С в алюмінієвих пакетах по 1 кг.

Поз.	Позначення	Найменування	Кільк.	Маса, кг	Примітка (матеріал)
1	2	3	4	5	6
КП 1	ВПД-405Д-60	Ваги електронні. Снабжені РК-дисплеєм. Діапазон зважування 0,4-60 кг. Ціна поділу 20 г. Потужність 0,25 Вт. Розмір платформи, мм 400х500. Габаритні розміри, мм: 260х287х119. Виробник: фірма «Дніпровес», Україна.	1	8	чорна рифлена сталь (забарвлена)
3 2, 3 3, 3 6, 3 7, 3 9, 3 11, 3 15, 3 20 - 3 26		Ємність для зважування. Посуд емальований. ГОСТ 471-81 (2,5,10,20,40 л)	15	1-2	Сталь, емаль
3 4, 3 8	С-50	Збірник. Повний робочий об'єм, л – 50/67; площа внутрішніх поверхонь, м ² – 0,87; внутрішній діаметр, мм – 400; робоча температура – 0...+40 °С; встановлена потужність, кВт – 0,03; габаритні розміри, мм – 752х500х1400; маса, нетто, кг – 66; матеріали виготовлення поверхонь - сталь AISI 316 L, сталь AISI 304. Снабжений тензометричним ваговимірювальним електронним пристроєм (ТВЕП).	2		

1	2	3	4	5	6
Ф 5	УСФ-293	Напірний тримач фільтра 293 мм. Площа фільтрації – 560 см ² ; вага – 20 кг; максимальний робочий тиск – 500кПа; діаметр мембранного фільтру – 293 мм; швидкість потоку: для води при $\Delta p=1$ бар (100 кПа, 14.5 псі): 0.2 мкм = 8 л/хв 0.45 мкм = 14 л/хв 0.8 мкм = 32 л/хв; матеріали – нержавіюча сталь AISI 316.	1	20	Н/сталь AISI 316
КП 10	SW-20	Ваги електронні. Снабжені РК-дисплеєм. Діапазон зважування 0,1 -20 кг. Ціна поділу 20 г. Потужність 0,25 Вт. Розмір платформи, мм 241x192. Габаритні розміри, мм: 260x287x119. Виробник: фірма «CAS Corporation», Південна Корея.	2	2,7	Н/сталь AISI 304
Р 12, Р 16, Р 18	PCI-200	Реактор. Робочий об'єм 200 л. З еліптичним днищем та відокремленою еліптичною кришкою, з теплообмінною (парової) і теплоізолюючою сорочками, з магнітною мішалкою, системою тензометрії, оглядовим вікном. Тиск робочий, МПа від - 1,0 до + 3,0. Температура робоча, від 20 до 132°C. Габаритні розміри, мм: 1041x1020x1575. Виробник: Промвіт, Україна	3	220	сталь AISI 316L
Р 13		Реактор. Оснащений системою тензометрії. Корпус з приварним еліптичним днищем та відокремленою еліптичною кришкою з двома сорочками:			

Продовження таблиці 3.5

1	2	3	4	5	6
		теплообмінною (паровою) та теплоізолюючою. Робочий об'єм, л - 600; температура в корпусі – від 20 °С до 132 °С; темепарутра в сорочці до 132 °С.			
Н 14	НД215-1000/10Д-14А	Насос для перекачування спирту етилового з подвійним торцевим ущільненням, відцентровий, продуктивність 1 м ³ /год, потужність двигуна 5 кВт. Виконання по вибухозахисту ВЗГ. Виробник: «Рігахіммаш».	2	350	Збірний
Р 17		Реактор для приготування середовища. Робочий об'єм 20 л. З підведенням вакууму та тиску. Макс. тиск до 4 МПа. Снабжений подвійною сорочкою, якірною мішалкою, тензометричним ваговимірювальним електронним пристроєм (ТВЕП) Виробник: фірма «Хіммікс», Україна	1	8	Н/сталь AISI 304 12X18H10T
Н 19, Н 32, Н 34	ЦНСк 5-120	Насос з подвійним торцевим ущільненням, відцентровий. Об'єм подачі, м ³ / год: 5. Напір, м: 120. Потужність ел.двигуна, кВт: 7,5. Габаритні розміри, мм: 1010x250x290. Виробник: ООО «Гідравлік-М», Україна	3	64	Збірний
Р 27, Р 29		Реактор. Вертикальний. Робочий об'єм 15 м ³ . З еліптичними днищем та кришкою, з двома сорочками: теплообмінною (парової) і теплоізолюючою, з якірною мішалкою, системою тензометрії, оглядовим вікном.	2	7297	сталь 12X18H10T або AISI 316

Продовження таблиці 3.5

1	2	3	4	5	6
		Тиск робочий, МПа: в корпусі 0,3, в сорочці 0,3-0,4, розрідження пари в корпусі до 0,03. Потужність двигуна, кВт 11. Габаритні розміри, мм: 6000x2500x2750. Виробник: Промвіт, Україна			
ГФ 28	УНС-5	Установка для безперервної стерилізації середовищ. Продуктивність: 5 м³/год стерильного середовища. Температура стерилізації: 112-145 °С. Тривалість витримування: 1–15 хв.	1		сталь 12X18H10T або AISI 316
Ф 30	Biostat® Cplus	Об'єм: 20 л. Швидкість обертання мішалки об/хв: 20–1000. Температура, С: 0–150. Діап. рН : 2–12. Діап. рО₂: 0–100%. Робочий тиск: -0,05 до 0,2 МПа. Потужність двигуна мішалки: 1200 Вт. Система керування температурою: закрыта термостатована система з рециркуляційним насосом, теплообмінником. Виробник: фірма «Sartorius» (Німеччина)	1	47	н/сталь AISI 316
Ф 31	ФА-200	Автоматичний ферментер. Робоча ємність, л 200. Співвідношення діаметра до висоти: 1 : 2,7. Корпус без глухих кутів, 2-шарова лопатева мішалка з прямими лезами, 1-шарова з похилими лезами, піногасна лопатка. Швидкість обертання: 50–600 об/хв, Система тензометрії. Потужність двигуна, кВт: 2,2. Габаритні розміри, мм: діаметр 525, висота 1000. Виробник: фірма «SmartWayPlus», Україна.	1	250	н/сталь SUS316L (внутрішня поверхня), SUS304 (зовнішня оболонка)

1	2	3	4	5	6
Ф 33	ПФ-2000	Автоматичний ферментер. Об'єм загальний, л: 2000. Співвідношення діаметра до висоти: 1 : 3. Регульовані трирівневі мішалки з похилими лопатями. Швидкість обертання: 20–400 об/хв. 3 приварені перегородки. Система тензометрії. Тиск, МПа 0,3 (ємність), 0,4 (сорочка). Робоча температура, °С: від 4 до 50. Стерилізація (SIP) до 150 °С. Автоматична подача повітря 2–2,5 VVM. Потужність двигуна, кВт: 0,25–2,2. Габаритні розміри, мм: діаметр 1300, висота 1500. Виробник: фірма «Biotechno», Україна	1	1230	Н/сталь марки 316L (для частин, що контактують із продуктом), 304L (для інших частин)
Ф 35	ПФ-20000	Промисловий ферментер. Вертикальний циліндричний з конічним днищем. Об'єм загальний, л: 20000. Співвідношення діаметра до висоти: 1 : 3. Тип мішалки: 3-рівнева турбінна з піногасною лопаткою. Швидкість обертання: 20–150 об/хв. Потужність двигуна, кВт: 30–50. Система тензометрії. Тиск, МПа 0,3 (ємність), 0,4 (сорочка). Робоча температура, °С: від 4 до 50. Стерилізація (SIP) до 130 °С. Автоматична подача повітря 0,5–2 VVM через кільцевий барботер з керамічними фільтрами 0,2 мкм. Потужність двигуна, кВт: 0,25–2,2. Габаритні розміри, мм: діаметр 2800, висота 7500. Виробник: фірма «Biotechno», Україна	1	12300	Н/сталь марки 316L (для частин, що контактують із продуктом), 304L (для інших частин)

Продовження таблиці 3.5

1	2	3	4	5	6
ГФ 36	GEA Westfalia UCD 536 Decanter Centrifuge	Суперцентрифуга. Горизонтальна декантерна центрифуга безперервної дії. Діаметр ротора (барабана), мм: 530. Співвідношення довжини до діаметра (L/D): 4,0. Максимальна швидкість обертання, об/хв: 3600. Макс. прискорення: до 3850 g. Макс. продуктивність, м³/год: до 75. Потужність приводу ротора, кВт: 55–90. Швидкість приводу ротора об/хв: 1500. Потужність приводу гвинта, кВт: 11. Габаритні розміри, мм: 3920×1350×1920. Виробник: GEA Westfalia, Німеччина.	3	5100	н/сталь CrNiMo (для частин, що контактують із продуктом)
З 37		Збірник пересувний. Ємність 200 л, оснащена відкидною кришкою, що складається з 2-х симетричних напівкришок з кріпленням на фланці ємності. Зі знімною мішалкою. Швидкість обертів 0-1000 об/хв. Оснащена тензометричним ваговимірювальним електронним пристроєм (ТВЕП). Габаритні розміри, мм: 530х320х240. Виробник: «Промвіт», Україна	2	65	Н/сталь 12Х18Н10Т
Н 38	З/8М0.3 5	Насос шестерний для в'язких продуктів, з внутрішнім зачепленням. Кількість обертів двигуна, об/хв 1450. Потужність, кВт 0,75. Продуктивність м³/год, 0,35. Тиск, МПа 0,6. Виробник: Туреччина, постачальник «Стрім-Енерджі».	3	2	н/сталь AISI304
Р 39	РВР 1000	Реактор. Місткість 1000 л, обладнаний якірною мішалкою з числом обертів 48 об/хв., пароводяною рубашкою,	2	650	Н/сталь 12Х18Н10Т

1	2	3	4	5	6
		відкидною кришкою. Тиск, МПа 0,3 (ємність), 0,4 (сорочка). Робоча температура, °С: від 4 до 150. Оснащений тензометричним ваговимірювальним електронним пристроєм (ТВЕП). Габаритні розміри, мм: діаметр 1100, висота 1250. Виробник: «Biotechno», Україна			
Ф 40	НФЛ – 0,7-1000 ПП	Нутч-фільтр. З підйомним днищем для полегшення видалення осаду. Тиск, МПа: від -0,1 до +0,1. Температурний діапазон, °С: від -60 до +200. Фільтрувальна перегородка: розмір пір 8–115 мікрон. Габаритні розміри, мм: 1070x1280x1415. Виробник: фірма «Донау Лаб Україна»	1	150	Поліпроп і-лен
ГФ 41	Модель FG-60	Сушарка з киплячим шаром. Об'єм камери, л: 220. Продуктивність, кг/партія 30-60. Тиск стисненого повітря, МПа 0,4-0,6. Тиск пари, МПа 0,4-0,6. Споживання пари, кг/год 300. Споживання стисненого повітря, м³/год 0,9. Потужність, кВт 18,5/22. Габаритні розміри, мм: діаметр 1340, висота 3953. Виробник: компанія «UPMASH», Китай.	1	1200	сталь AISI 316L
ГФ 42		Кульовий млин. Об'єм робочої камери 30 л. Остаточний розмір часток: до 10 мкм (залежить від матеріалу). Матеріал куль: сталь, чавун або кераміка. Швидкість обертання: 380 об/хв.	1	50	сталь AISI 316L
ГФ 43	Серія KDS	Вібросито. Кількість сіт — 1–3. Розміри комірок сіток від 1,8 мм до 6 мм. Частота вібрації 1390–1400 коливань/хв. Продуктивність 0,3 т/год. Потужність двигуна 0,2-1,1 кВт. Габарити робочої камери, мм: 600×670×620. Виробник: Китай.	1	125	сталь AISI 316L

Продовження таблиці 3.5

1	2	3	4	5	6
ГФ 44	ДВП-3	Напівавтомат пакувальний з дозатором. Межі дозування 1-6 кг. Дискретність дози 2 г. Продуктивність 8-10 доз/хв. Клас точності 1. Потужність 1 кВт. Об'єм бункера 100 л. Габаритні розміри, мм: 800x820x2300. Постачальник: група «Асвік-Центр», Україна.	1	160	н/сталь AISI-306
ГФ 45		Стіл для пакування. Габаритні розміри, мм: 1700x700x800.	1	50	н/сталь 13X19H8T

3.5 Критичні параметри виробництва

Таблиця 3.6 – Контроль критичних стадій і проміжної продукції виробництва антибіотику «Грамідин С, порошок-субстанція» по 1 кг. [22]

Номер	Критичні точки (критичні стадії, операції)	Критичні параметри і критичні характеристики якості	Одиниця виміру	Критерій прийнятності
1	2	3	4	5
Стадія 1. Санітарна підготовка виробництва.				
К 1.1.1	Стадія 1	Повітря виробничих приміщень класів С та D: - мікробна контамінація - число часток в 1 м ³ повітря	КУО/м ³	C – ≤100 D – ≤ 200 [додаток 1 до Настанови GMP]
К 1.1.2	Стадія 1	Технологічне обладнання та інвентар: - мікробна контамінація	КУО/ м ³ / пластин а	C – ≤ 25 D – ≤ 50
К 1.1.3	Стадія 1	Технологічний одяг: - мікробна контамінація	КУО/ м ³ / пластин а	C – ≤ 25 D – ≤ 50

1	2	3	4	5
К 1.1.4	Стадія 1	Контроль рук (рукавичок) працівників: - мікробна контамінація	КУО/ м ³ / рукавич ка	С – не нормується D – не нормується
Стадія 2. Приготування і стерилізація допоміжних розчинів.				
К 2.1.1	Операція 2.1	Вага компонентів: -питна вода -соляна кислота. Вага отриманого розчину хлористоводневої кислоти. Рейтинг пор. Тиск.	кг кг кг мкм МПа	33,54 6,86 40,4 0,8 та 0,2 0,1
К 2.2.1	Операція 2.2	Вага компонентів: -питна вола -гідроксид натрію. Вага отриманого розчину. Режим стерилізації отриманого розчину -температура -час.	л кг °C хв	35,96 4,04 131 40
К 2.3.1	Операція 2.3	Вага компонентів: -питна вода -наважка хлориду натрію -наважка соляної кислоти. Вага отриманого розчину (хлориду натрію та соляної кислоти) Тривалість перемішування	л кг г кг хв	183 1,61 370 185 10-15
К 2.4.1	Операція 2.4	Вага етанолу	кг	370
К 2.5.1	Операція 2.5	Вага компонентів: -питна вода -наважка хлориду натрію Вага отриманого розчину хлориду натрію Тривалість перемішування	кг кг кг хв	166,5 18,5 185 10-15
Стадія 3. Приготування та стерилізація живильних середовищ.				

Продовження таблиці 3.6

1	2	3	4	5
К 3.1.1	Операція 3.1	рН. Вага компонентів: -молоко сухе знежирене -гліцерин -карбонат кальцію -вода очищена. Вага отриманого молочного живильного середовища Тривалість перемішування.	г г г л хв	7,0 105 157,5 15,75 решта
К 3.1.2	Операція 3.1	Режим стерилізації отриманого живильного середовища: -температура -тиск -час	°C Мпа хв	 112 0,5 30
К 3.1.1	Операція 3.2	Вага компонентів: -Магнію сульфат ($MgSO_4$) x 7H ₂ O -Калію фосфат двозаміщений (K_2HPO_4) -Кальцію хлорид ($CaCl_2$) x 2 H ₂ O -Калію сульфат (K_2SO_4) -Натрію карбонат (Na_2CO_3) -Заліза едетат Температура підігріву для швижкості розчинення Тривалість перемішування	кг кг кг кг кг кг °C хв	 2,534 1,318 2,233 1,723 0,912 0,72 55±5 20-25
К 3.1.2	Операція 3.2	Вага компонентів: -бактотриптон -дріжджовий екстракт -D-глюкоза -Калію хлорид (KCl) -Натрію хлорид (NaCl) -Натрію сульфат (Na_2SO_4) -Натрію гідрокарбонат ($NaHCO_3$) -вода очищена Температура підігріву для швижкості розчинення Тривалість перемішування	кг кг кг кг кг кг кг кг °C хв	 10,135 10,135 5,068 64,256 12,162 24,324 5,068 5000±500 55±5 20-25

1	2	3	4	5
К 3.1.3	Операція 3.2	Вага середовища. Тривалість перемішування	кг хв	10135 30-40
К 3.3.1	Операція 3.3	Температура охолодження	°C	40±3
К 3.3.2	Операція 3.3	Температура підтримання	°C	40±3
Стадія 4. Підготовка посівного матеріалу.				
К 4.1.1	Операція 4.1	Параметри вирощування культури: -час -температура	год °C	48 40
К 4.2.1	Операція 4.2	Загальна кількість середовища	мл	914
К 4.2.2	Операція 4.2	Параметри культивування: -температура -час. Кількість отриманої посівної культури.	°C год мл	37 24 910
К 4.3.1	Операція 4.3	Параметри культивування: -температура -час -кількість обертів.	°C год об/хв	37 24 160
К 4.3.2	Операція 4.3	Кількість отриманої посівної культури.	кг	9,13
К 4.4.1	Операція 4.4	Параметри культивування: -температура -час -кількість обертів.	°C год об/хв	37 48 160
К 4.4.2	Операція 4.4	Кількість отриманої посівної культури.	кг	91,3
К 4.5.1	Операція 4.5	Параметри культивування: -температура -час -кількість обертів.	°C год об/хв	37 48 160
К 4.5.2	Операція 4.5	Кількість отриманої посівної культури.	кг	913
Стадія 5. Біосинтез .				
К 5.1.1	Операція 5.1	Кількість: -стерильне середовище TYG -посівний матеріал	м ³ м ³	9,130 0,913

1	2	3	4	5
К 5.1.2	Операція 5.1	Параметри культивування: -час -рН -температура	год °С	48 7 37
К 5.1.3	Операція 5.1	Максимальна концентрація граміцидину С	г/л	1,5
Стадія 6. Відділення біомаси.				
К 6.1.1	Операція 6.1	Режим суперцентрифугування: -кількість об/хв -сила центрифуги -час	об/хв g хв	3600 3850 15
К 6.1.2	Операція 6.1	Фіксація ваги осаду	кг	185
Стадія 7. Виділення граміцидину С				
К 7.1.1	Операція 7.1	Режими попередньої підготовки осаду: -кількість оборотів мішалки -температура глухої пари -тривалість витримки	об/хв °С хв	48 80 15
К 7.1.2	Операція 7.1	Температура охолодження суміші	°С	20±5
К 7.2.1	Операція 7.2	Час екстракції. температура екстракції.	год	1 кімнатна
Стадія 8. Отримання сухого граміцидину С.				
К 8.1.1	Операція 8.1	Час перемішування. Температура.	хв °С	5-10 55-65
К 8.2.1	Операція 8.2	Охолодження подачею розсолу. Витримка до утворення кристалів.	°С хв	5 30-40
К 8.3.1	Операція 8.3	Тиск вакууму	МПа	0,05
К 8.3.2	Операція 8.3	Вага кристалічного вологого осаду	кг	16,30
К 8.4.1	Операція 8.4	Вміст граміцидину С в сухому продукті	%	95
К 8.5.1	Операція 8.5	Розмір кульок	мм	20
Стадія 9. Пакування, маркування та відвантаження готової продукції.				

1	2	3	4	5
К 9.1.1	Стадія 9	Контроль маси наповнених пакетів. Якість маркування: - відповідність етикетки макету ТУ - правильність номера серії та терміну придатності - якість наклеювання етикетки. Контроль готової продукції: Граміцидин С, порошок-субстанція.	кг	1,0 Відповідає Відповідає Відсутність дефектів Відповідність всіх показників вимогам ТУ

3.6 Екологічні аспекти виробництва

Виробництво антибіотика граміцидину шляхом мікробного синтезу вважається екологічно безпечним та відноситься до екологічно чистого підходу до отримання цінних лікарських засобів. Данна біотехнологічна методика значно перевершує традиційні хімічні синтези, потребує менше токсичних реагентів, що знижує ризик утворення небезпечних відходів. [32]

Однією з ключових переваг такого виробництва є використання відновлюваних джерел сировини. Замість залежності від нафтохімічних продуктів, мікробний синтез базується на використанні мікроорганізмів, як при виробництві антибіотика граміцидину використовується штамм *Bacillus brevis*. *Bacillus brevis* може рости на простих, доступних та відновлюваних органічних субстратах. Тим самим не тільки зменшується виснаження невідновлюваних ресурсів, але й мінімізується екологічний слід, пов'язаний з видобутком та переробкою.

Крім того, процеси ферментації, які лежать в основі мікробного синтезу відбуваються за м'яких умов, тобто при помірній температурі та тиску. Такі умови значно знижують енергоспоживання в порівнянні з енергоємними хімічними реакціями. Менше енергії, отже, менше викидів парникових газів, що сприяє боротьбі зі зміною клімату. [32]

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
						69
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Важливим аспектом є також зменшення використання токсичних хімікатів. На відміну від складних багатостадійних хімічних синтезів, які часто потребують агресивних розчинників та реагентів, біосинтез граміцидину відбувається у водному середовищі. Хоча для екстракції та очищення можуть використовуватися деякі органічні розчинники, їхнє застосування є контрольованим, і постійно розробляються та впроваджуються "зелені" альтернативи, що мінімізує утворення небезпечних відходів. [33]

Крім того, як поживне середовище для ферментації можуть використовуватись відновлювані ресурси або органічні відходи сільськогосподарського походження, що сприяє раціональному природокористуванню та зменшенню загального екологічного навантаження. Системи контролю процесу бродіння забезпечують ефективне управління викидами та утворенням відходів, а залишкові матеріали після завершення виробництва піддаються біологічному очищенню або утилізації згідно з екологічними нормами.

Граміцидин, будучи природним поліпептидом, є біорозкладним. Це гарантує, що після його використання та потрапляння в навколишнє середовище, він швидко розкладається на прості, нешкідливі компоненти, не накопичуючись і не спричиняючи довгострокового забруднення. [29]

Стічні води, що утворюються під час мікробного синтезу антибіотика граміцидину, становлять потенційну екологічну небезпеку та потребують ретельної обробки перед скиданням у навколишнє середовище. У процесі біотехнологічного виробництва граміцидину, зокрема при культивуванні штамів *Bacillus brevis* або подібних продуцентів, у стічні води можуть потрапляти залишки поживних середовищ (органічні сполуки, пептони, дріжджовий екстракт), клітинна маса, метаболіти, а також сам антибіотик у невеликих концентраціях. [32]

Наявність активних залишків граміцидину у стічних водах є особливо небезпечною, оскільки цей антибіотик має виражену антимікробну дію, що

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		70

може негативно впливати на мікробіоценоз природних водних екосистем або на ефективність біологічних очисних споруд. Потрапляння таких речовин у довкілля сприяє формуванню резистентності у мікроорганізмів, що є глобальною проблемою охорони здоров'я.

Очищення стічних вод з виробництва грамїцидину, як правило, вимагає комбінованого підходу. Первинна механічна сепарація може бути доповнена хімічною нейтралізацією та біологічною очисткою. Іноді застосовують специфічні методи – наприклад, сорбцію активованим вугіллям або мембранні технології – для вилучення залишкових антибіотиків. Також актуальним є питання утилізації осаду, що утворюється після очищення, адже він може містити токсичні компоненти.

З огляду на зростаючу увагу до екологічної безпеки та регулювання викидів фармацевтичної промисловості, контроль за стічними водами таких виробництв є обов'язковим і регламентується відповідними нормами.

Таким чином, виробництво грамїцидину мікробним шляхом є не лише ефективним з точки зору виходу цільового продукту, але й екологічно чистим, безпечним для навколишнього середовища і таким, що відповідає сучасним вимогам сталого розвитку.

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
						71
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ВИСНОВОК

1. Проаналізовано джерела літератури щодо властивостей, особливостей виробництва, застосування антибіотика граміцидин, проведено огляд препаратів та виявлено, що найчастіше його використовують в лікарських засобах для зовнішнього застосування.
2. Проаналізовано особливості та способи проведення біосинтезу граміцидину, виявлено продуцента - *Bacillus brevis*, та проаналізовано його характеристики.
3. Розглянуто та проаналізовано технологічний процес виробництва антибіотика граміцидин С у вигляді порошку-субстанції. Складено технологічний опис, біологічну та технологічну схеми виробництва.
4. Обґрунтовано впровадження автоматичного ферментера, який є високотехнологічним обладнанням, що забезпечує стабільні та контрольовані умови для вирощування бактеріальних культур, що є критично важливим у біотехнологічних виробництвах. Складено апаратурну схему виробництва.
5. Проведено технологічні розрахунки сировини та обладнання для отримання серії антибіотика «Грамідин С, порошок-субстанція».
6. Удосконалення апаратурного ланцюга сприятиме підвищенню ефективності використання ресурсів, що знизить собівартість готової продукції та зробить її більш конкурентоспроможною на ринку.
7. Впровадження граміцидину С у формі порошку-субстанції має важливе значення для охорони здоров'я людини, оскільки цей антибіотик ефективно діє проти широкого спектра грампозитивних бактерій, зокрема при інфекціях шкіри, слизових оболонок та верхніх дихальних шляхів. Використання високоякісного граміцидину С сприяє швидшому одужанню, зниженню ризику ускладнень і запобіганню розвитку резистентності до інших антибіотиків. Отримані результати є цінними для практичної медицини можуть бути використані для вдосконалення лікувальних протоколів та підвищення ефективності антимікробної терапії.

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		72

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Antimicrobial Peptides: An Update on Classifications and Databases / A. Bin Hafeez et al. *International journal of molecular sciences*. 2021. Vol. 22(21). P. 11691. DOI: [10.3390/ijms222111691](https://doi.org/10.3390/ijms222111691).
2. Brevibacillus brevis. *ScienceDirect*. URL: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/brevibacillus-brevis> (Date of access: 15.04.2025).
3. Clinical Applications and Anticancer Effects of Antimicrobial Peptides: From Bench to Bedside / A. Jafari et al. *Front. Oncol.* 2022. Vol. 12. P. 819563. DOI: 10.3389/fonc.2022.819563.
4. Discovery, Optimization, and Clinical Application of Natural Antimicrobial Peptides / A. A. Rodríguez et al. *Biomedicines*. 2021. Vol. 9(10). P. 1381. DOI: [10.3390/biomedicines9101381](https://doi.org/10.3390/biomedicines9101381).
5. Ganesan P., Ramalingam R. Gramicidin Peptide to Combat Antibiotic Resistance: A Review. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*. 2020. Vol. 26(1). DOI: 10.1007/s10989-019-09828-0.
6. Gramicidin S and melittin: potential anti-viral therapeutic peptides to treat SARS-CoV-2 infection / M. G. Enayathullah et al. *Sci Rep.* 2022. Vol. 12. P. 3446. DOI: [10.1038/s41598-022-07341-x](https://doi.org/10.1038/s41598-022-07341-x).
7. Gramicidin S biosynthesis. *MetaCyc*. URL: <https://biocyc.org/pathway?orgid=META&id=PWY-6003> (Date of access: 15.04.2025).
8. Gramicidin. *ScienceDirect*. URL: <https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/gramicidin> (Date of access: 15.04.2025).
9. In silico molecular docking of SARS-CoV-2 surface proteins with microbial non-ribosomal peptides: identification of potential drugs / P. Bansal et al. *J. Proteins Proteom.* 2021. Vol. 12. P. 177–184. DOI: [10.1007/s42485-021-00072-z](https://doi.org/10.1007/s42485-021-00072-z).
10. Loss of Gramicidin Biosynthesis in Gram-Positive Biocontrol Bacterium *Aneurinibacillus migulanus* (Takagi et al., 1993) Shida et al. 1996 Emend

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		73

Heyndrickx et al., 1997 Nagano Impairs Its Biological Control Ability of Phytophthora / F. N. Alenezi et al. *Forests*. 2022. Vol. 13(4). P. 535. DOI: [10.3390/f13040535](https://doi.org/10.3390/f13040535).

11. Ming Y., Shuai L., Chunye Z. Antimicrobial peptides with antiviral and anticancer properties and their modification and nanodelivery systems. *Current Research in Biotechnology*. 2023. Vol. 5. P. 100121. DOI: 10.1016/j.crbiot.2023.100121.
12. Saxena S. Microbes in Production of Fine Chemicals (Antibiotics, Drugs, Vitamins, and Amino Acids). *Applied Microbiology*. 2015. P. 83–120. DOI: 10.1007/978-81-322-2259-0_8.
13. Structure, toxicity and antibiotic activity of gramicidin S and derivatives / J. Swierstra et al. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect Dis*. 2016. Vol. 35. P. 763–769. DOI: [10.1007/s10096-016-2595-y](https://doi.org/10.1007/s10096-016-2595-y).
14. Supreme activity of gramicidin S against resistant, persistent and biofilm cells of staphylococci and enterococci / M. Berditsch et al. *Sci Rep*. 2019. Vol. 9. P. 17938. DOI: [10.1038/s41598-019-54212-z](https://doi.org/10.1038/s41598-019-54212-z).
15. The Multifaceted Antibacterial Mechanisms of the Pioneering Peptide Antibiotics Tyrocidine and Gramicidin S / M. Wenzel et al. *mBio*. 2018. Vol. 9(5). P. e00802-18. DOI: [10.1128/mbio.00802-18](https://doi.org/10.1128/mbio.00802-18).
16. Topical (local) antibiotics for respiratory infections with sore throat: An antibiotic stewardship perspective / S. Essack et al. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*. 2019. Vol. 44(6). P. 829–837. DOI: [10.1111/jcpt.13012](https://doi.org/10.1111/jcpt.13012).
17. Zhang C., Yang M., Ericsson A. C. Antimicrobial Peptides: Potential Application in Liver Cancer. *Front. Microbiol*. 2019. Vol. 10. P. 1257. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01257.
18. Антимікробний пептид граміцидин S впливає на проліферацію та пригнічує адгезію фібробластів лінії L929 / Н. М. Алабедацька та ін. *Біофізичний вісник*. 2023. № 49. С. 43–60. DOI: [10.26565/2075-3810-2023-49-04](https://doi.org/10.26565/2075-3810-2023-49-04).

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		74

19. Біологічна хімія : підручник / Ю. І. Губський та ін. Вінниця : Нова Книга, 2021. 648 с.
20. Біотехнологія антибіотиків. Лабораторний практикум : навч. посіб. для студентів спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія», освітня програма «Біотехнології» / КПІ ім. Ігоря Сікорського ; уклад.: Л. Б. Орябінська, Л. П. Дзигун, В. Ю. Поліщук. Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2020. 40 с.
21. Біотехнологія та біоінженерія. Ч. 1. Основи біотехнології. Рекомендації до виконання практичних робіт : навч. посіб. для здобувачів ступеня бакалавра, які навчаються за освітньо-професійною програмою «Регенеративна та біофармацевтична інженерія» спец. 163 «Біомедична інженерія» / КПІ ім. Ігоря Сікорського ; уклад.: В. В. Мотроненко, Т. М. Луценко, Л. М. Дронько. Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2022. 96 с.
22. ДСТУ ГОСТ 2.612:2014. Єдина система конструкторської документації. Електронний формуляр. Загальні вимоги. (ГОСТ 2.612-2011, IDT). Офіц. вид. Вперше ; чинний від 2014-11-01. Київ : Мінекономрозвитку України, 2014. 47 с.
23. Лікарські засоби. Належна виробнича практика : Настанова СТ–Н МОЗУ 42–4.0:2020. Чинний від 2020-05-04. Київ : МОЗУ, 2020. 356 с.
24. Лікарські засоби. Належна виробнича практика. Дод. 1. Виробництво стерильних лікарських засобів : Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0/1:2023 / розроб.: ДНУ «НТК «Інститут монокристалів» НАН України». Затв. наказ МОЗУ від 2023-05-29 № 981. Вид. офіц. Київ : МОЗ України, 2023. 97 с.
25. Маслова Т. Ю., Двінських Н. В. Аналіз умов культивування продуценту граміцидину. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів : матеріали XXXI Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів*, м. Харків, 23-25 квіт. 2025 р. Харків : НФаУ, 2025. С. 181–183.
26. Методичні рекомендації до виконання кваліфікаційної роботи бакалавра для здобувачів вищої освіти спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» ОП «Біотехнологія» / О. С. Калюжная та ін. Харків : НФаУ, 2024. 128 с.

					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		75

- 27.Мікробіологія : підручник / М. Г. Сергійчук та ін. Київ : ФОП Маслаков, 2020. Т. 1. 500 с.
- 28.Мікробіологія : підручник / М. Г. Сергійчук та ін. Київ : ФОП Маслаков, 2020. Т. 2. 348 с.
- 29.Пирог Т. П. Загальна мікробіологія : підручник. 2-ге вид., допов. та перероб. Київ : НУХТ, 2010. 623 с.
- 30.Пирог Т. П., Пенчук Ю. М. Біохімічні основи мікробного синтезу : підручник. Київ : Ліра-К, 2019. 258 с.
- 31.Сидоров І. Ю., Влязло Р. І., Новіков В. П. Процеси і апарати мікробіологічних виробництв : підручник. Харків : ХНФаМ, 2020. 256 с.
- 32.Чумак А. А., Мележик О. В., Цейслер Ю. В. Антибіотики : опорний конспект лекцій. Київ : Університет «Україна», 2020. 74 с.
- 33.Юлевич О. І. Промислова біотехнологія : курс лекцій для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти ОПП «Біотехнології та біоінженерія» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» денної форми здобуття вищої освіти. Миколаїв : МНАУ, 2024. 159 с.

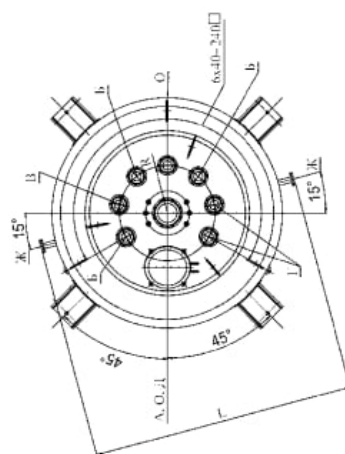
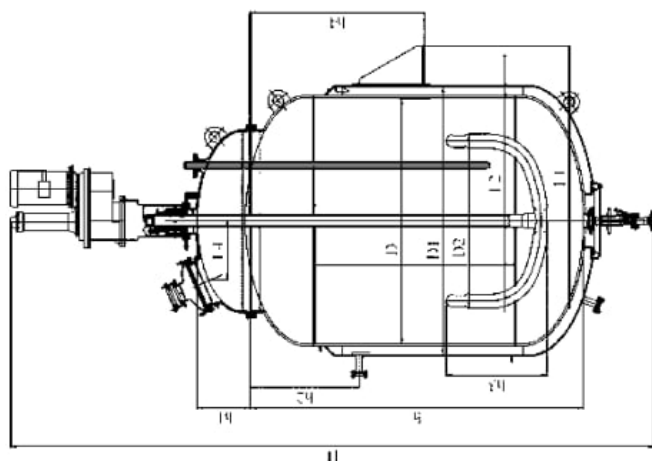
					162.01.10.00 000 ПЗ	Арк.
						76
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ДОДАТКИ

162.0110.00 000 173

Перелік складових частин

Вид	Виды	Полосные	Наименование	Класс	Группа
	А		А/м	I	
	Б		Темносерый, для муж- ских костюмов, пальто	I	
	В		Голубая шерсть	I	
	Г		Зеленый	I	
	Д		Синий, контрастный для муж- ских костюмов	I	
	Е		Синий, контрастный для костю- мов	I	
	Ж		Синий или, для муж-ских костю- мов	I	
	И		Войлок, контрастный	I	
	К		Войлок, контрастный, контраст- ный, для мужских пальто	I	
	Л		Войлок, контрастный, контраст- ный, для мужских пальто	I	
	М		Войлок, контрастный, контраст- ный, для мужских пальто	I	
	Н		Войлок, контрастный	I	
	О		Войлок, контрастный	I	



Характеристика приладу

Рядовый офицер 1-го разряда	82,0
Рядовый офицер 2-го разряда	13,7
Рядовый офицер 3-го разряда	72,97
Рядовый офицер 4-го разряда	8200,2-14-50-307
Рядовый офицер 5-го разряда	АМР127 №
Рядовый офицер 6-го разряда	110
Рядовый офицер 7-го разряда	50
Рядовый офицер 8-го разряда	0,3
Рядовый офицер 9-го разряда	0,4
Рядовый офицер 10-го разряда	2200
Рядовый офицер 11-го разряда	2400
Рядовый офицер 12-го разряда	550
Рядовый офицер 13-го разряда	2297
Рядовый офицер 14-го разряда	2975
Рядовый офицер 15-го разряда	470
Рядовый офицер 16-го разряда	970
Рядовый офицер 17-го разряда	90
Рядовый офицер 18-го разряда	550
Рядовый офицер 19-го разряда	2750
Рядовый офицер 20-го разряда	3168
Рядовый офицер 21-го разряда	2968
Рядовый офицер 22-го разряда	-
Рядовый офицер 23-го разряда	530
Рядовый офицер 24-го разряда	500

[illegible]

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ
НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

МАТЕРІАЛИ
XXXI МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ
КОНФЕРЕНЦІЇ МОЛОДИХ ВЧЕНИХ ТА СТУДЕНТІВ

23–25 квітня 2025 року
м. Харків

Харків
НФаУ
2025

ОРГАНІЗАЦІЯ ВИРОБНИЦТВА СУПОЗИТОРІЇВ З ІНТЕРФЕРОНОМ АЛЬФА-2В

Куц П.О.

Науковий керівник: Соловійова А.В.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

soloviova.alina@gmail.com

Вступ. Супозиторії займають важливе місце у фармацевтичній промисловості завдяки своїм численним перевагам. Вони забезпечують зручний та безболісний спосіб введення лікарських засобів, особливо для пацієнтів, які мають труднощі з пероральним прийомом. Основні переваги супозиторіїв включають швидку абсорбцію активних речовин через слизові оболонки, зменшення подразнення шлунково-кишкового тракту та можливість локальної або системної дії. Це робить їх ефективною лікарською формою для лікування різних захворювань.

Мета дослідження. Метою дослідження є супозиторії з інтерфероном альфа-2b для організації виробництва на вітчизняному підприємстві.

Матеріали та методи. Матеріалами дослідження були публікації у наукових періодичних виданнях.

Результати дослідження. Інтерферон альфа-2b є рекомбінантним білком, який широко застосовується в медицині завдяки своїм противірусним, імуномодуючим та антипроліферативним властивостям. Він використовується для лікування вірусних інфекцій (наприклад, гепатиту В і С, папіломавірусних інфекцій), онкологічних захворювань (меланома, лейкемія) та імунодефіцитних станів. Даний препарат стимулює імунну систему, підвищуючи активність природних кілерів і макрофагів, що сприяє боротьбі з патогенами та злоякісними клітинами.

Висновки. Супозиторії з інтерфероном альфа-2b найчастіше застосовуються для лікування вірусних та інфекційних захворювань, таких як герпесвірусна інфекція, уrogenітальні інфекції, аногенітальні бородавки, бактеріальні вагінози та дисбіоз. Вони також можуть використовуватися у складі комплексної терапії для підтримки імунітету при частих респіраторних захворюваннях та хронічних вірусних інфекціях. Завдяки місцевому введенню препарату досягається висока концентрація активної речовини без значного системного навантаження, що знижує ризик побічних ефектів. Таким чином, супозиторії з інтерфероном альфа-2b є ефективною лікарською формою, яка поєднує високу терапевтичну активність з безпечністю та зручністю застосування.

АНАЛІЗ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ ПРОДУЦЕНТУ ГРАМІЦИДИНУ

Маслова Т.Ю.

Науковий керівник: Двінських Н.В.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

begunova1203@gmail.com

Вступ. Стійкість до антибіотиків стала однією з головних загроз здоров'ю населення. Щороку мільйони людей заражаються бактеріями, стійкими до антибіотиків. Згідно з попередженням Всесвітньої організації охорони здоров'я у 2019 році, до 2050 року кількість смертей у світі, спричинених стійкими до антибіотиків збудниками, становитиме 10 мільйонів

щороку. Відомо про багато механізмів антибіотикорезистентності. Більшість звичайних антибіотиків пригнічують або вбивають бактерії, зв'язуючись з їх мішенями через сайт-специфічний механізм зв'язування, таким чином створюючи тиск на бактеріальний метаболізм і проліферацію. Однак цей механізм зв'язування також піддається швидкому розвитку резистентності до антибіотиків. У процесі пошуку антибіотиків нового покоління антимікробним пептидам (АМП), до яких відноситься граміцидин, останніми десятиліттями приділяли значну увагу. АМП співіснували з мікробами протягом мільйонів років, але широко поширеної резистентності до них немає через унікальний антимікробний механізм їхньої дії. На відміну від більшості звичайних антибіотиків, АМП вбивають або пригнічують бактерії головним чином за допомогою мембраноактивного механізму, який не передбачає ні сайт-специфічного зв'язування, ні втручання в бактеріальний метаболізм.

Необхідність забезпечення стабільного постачання ефективного антимікробного засобу з унікальним механізмом дії в умовах стрімкого зростання резистентності бактерій до традиційних антибіотиків обумовлює актуальність організації виробництва граміцидину.

Мета дослідження. Аналіз умов культивування продуцента граміцидину для розробки технологічного процесу промислового отримання цього антибіотика.

Матеріали та методи. У дослідженні використано аналітичні методи: проведено систематизацію та класифікацію даних наукової літератури з питань культивування мікроорганізма-продуцента граміцидину, застосовано абстрактно-логічний метод для узагальнення отриманих даних і формулювання висновків.

Результати дослідження. Утворення антибіотика граміцидину відбувається шляхом біосинтезу в клітинах продуцента – бактерії *Aneurinibacillus migulanus* (*Bacillus brevis*) за участю ферментів граміцидинсинтази I та II, і накопичується в гранулах клітин-продуцентів. Штами продуцентів зберігають у вигляді суспензій спор у 30% гліцерині при -20 °С.

Для виробництва граміцидину С (S) запропоновані середовища на основі м'ясного і дріжджового гідролізату, що містять збалансований набір мінеральних і органічних солей. Компоненти середовища відрізняються за своїм впливом на ріст культури та на утворення антибіотика. У складному середовищі, що містить дріжджовий екстракт і пептон, лише гліцерин, d-фруктоза та мезоінозит сприяли росту, тоді як інші гексози, пентози, поліоли, полісахариди та органічні кислоти були неактивними. Гліцерин і фруктоза інгібували утворення граміцидину; інозит не мав ефекту. У синтетичних середовищах із вмістом п'яти амінокислот (глутамін, метіонін, пролін, аргінін і гістидин), необхідних для гарного росту, знову лише гліцерин, d-фруктоза та мезоінозит служили ефективними джерелами вуглецю для росту. Для утворення антибіотиків інозит був набагато гіршим, ніж гліцерин або фруктоза. У присутності гліцерину та п'яти амінокислот додавання фенілаланіну стимулювало антибіотикоутворення. Кінетика росту в цьому середовищі показала дві фази: ранній і швидкий ріст за рахунок суміші амінокислот з наступним використанням гліцерину після діауксичної затримки від 2 до 3 годин; використання інозиту зазнало значно більшого періоду затримки. Формування граміцидину було розпочато після діауксичного лагу. Сульфат амонію був найкращим індивідуальним джерелом азоту, але комбінація п'яти амінокислот, що стимулюють ріст, була більш потужною для виробництва антибіотика. Рівень фосфату калію також впливає на утворення антибіотика. Високі рівні стимулюють ріст, але поступово починають пригнічувати виробництво граміцидину. Метіонін був найкращим джерелом сірки.

Для ефективного біосинтезу граміцидину необхідні такі умови культивування:

- асептичні умови для забезпечення відсутності інших мікроорганізмів;

- підтримка діапазону рН з урахуванням властивостей певного штаму, оптимальним вважають діапазон 5,5–7,5;
- підтримка оптимальної температури для росту та біосинтезу граміцидину, яка може коливається в межах 25-37°C;
- забезпечення належної аерації (від 0,38 до 4,31 г О₂*л/год) оскільки граміцидін продукується в аеробних умовах;
- тривалість інкубації може варіюватись, але зазвичай триває від 24 до 72 годин для досягнення максимальної продукції антибіотика.

Всі ці умови сприяють оптимізації росту бактерій і забезпечують високий вихід граміцидину

Висновки. Аналіз способів руйнування клітинної стінки хлорели показав, що найбільш перспективним для виділення біологічно активних речовин є комбінований підхід, що поєднує механічний та ферментативний методи. Механічна активація біомаси водорості забезпечує ефективне руйнування клітин, підвищення проникності клітинних стінок та їх реакційної здатності до подальшого ферментативного гідролізу. Такий комбінований метод є більш енергоефективним порівняно з високотемпературною обробкою, оскільки не потребує великих об'ємів води та підтримання високої температури. Застосування даного підходу дозволить удосконалити технологічний процес отримання екстракту водорості *Chlorella vulgaris* з максимальним вилученням цінних біологічно активних речовин при збереженні їх активності, що є особливо важливим для розробки косметичних продуктів.

ІНАКТИВАЦІЯ СПОР *BACILLUS SUBTILIS* В ЛЮДСЬКОМУ ГРУДНОМУ МОЛОЦІ З ВИКОРИСТАННЯМ ВИСОКОГО ТИСКУ

Маслова Т.Ю.

Наукові керівники: Jean-Marie Perrier-Cornet, Хохленкова Н.В.

PMB Institut Agro Dijon, Dijon, France

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

maslowatanya76@gmail.com

Вступ. Грудне молоко людини (ГМЛ) є цінним джерелом біологічно активних речовин, яке отримують від жінок-донорів і використовують для вигодовування немовлят, які позбавлені можливості отримувати грудне молоко від матері.

ГМЛ піддається строгому мікробіологічному контролю, і, у разі виявлення мікробіологічного забруднення, воно підлягає утилізації. Контамінація споровими формами бактерій є серйозною проблемою, оскільки традиційні методи знезараження не забезпечують повної мікробіологічної чистоти ГМЛ.

Пастеризація за Холдером є рекомендованим методом термічної обробки ГМЛ, проте вона впливає на його харчові та біологічні характеристики, а також не ефективна щодо інактивації спор. Застосування високого тиску розглядається як альтернативний метод, що дозволяє зберегти якісні параметри ГМЛ та одночасно усунути стійкі спорові форми мікроорганізмів. Інактивація спор з використанням високого тиску широко застосовується для деконтамінації харчових та інших продуктів.

Ключовою перевагою обробки під високим тиском полягає в тому, що немає необхідності використовувати хімічні реагенти або термічну обробку, які можуть негативно