

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет _____ Фармацевтичний _____
(*назва факультету*)

Кафедра _____ Фармацевтичної хімії та технології ліків _____
(*назва кафедри*)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з науково-педагогічної роботи

_____ Едуард БУРЯЧКІВСЬКИЙ

«01» вересня 2023 р.

МЕТОДИЧНА РОЗРОБКА ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ
З НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ «ТЕХНОЛОГІЯ БІОПРЕПАРАТІВ»

Факультет _____ Фармацевтичний, Курс III (ЗАО) _____

Навчальна дисципліна «Технологія біопрепаратів»
(*назва навчальної дисципліни*)

Затверджено:

Засіданням кафедри фармацевтичної хімії та технології ліків
Одеського національного медичного університету

Протокол № 1 від «28» серпня 2023 р.

Завідувач кафедри _____ (Володимир ГЕЛЬМБОЛЬДТ)
(підпис) *(Ім'я, прізвище)*

Розробники: доц., к.фарм.н. Фізор Н.С., ас. Молодан Ю.О.

Практичне заняття № 1

Тема: «Об'єкти та методи технології біопрепаратів. Аналітичні методи дослідження в технології біопрепаратів» – 2 год.

Мета: ознайомлення з об'єктами технології біопрепаратів, розгляд методів виробництва біопрепаратів, розгляд різних методів аналізу, які дозволяють визначати якість, чистоту, активність і безпеку біопрепаратів.

Основні поняття: біопрепарати, біологічні системи, аналітичні методи.

Обладнання: методичні рекомендації, підручники.

План

1. Організаційний момент (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація студентів щодо вивчення теми).

2. Контроль опорного рівня знань (письмова робота, фронтальне опитування тощо):

- **вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять** (вимоги до знань, перелік дидактичних одиниць)

Технологія біопрепаратів - це галузь науки і техніки, що вивчає методи отримання, переробки та використання біологічних продуктів. **Біопрепарати** - це продукти життєдіяльності мікроорганізмів, рослин і тварин, які використовуються в різних галузях народного господарства, зокрема в медицині, сільському господарстві, харчовій промисловості.

Об'єктами технології біопрепаратів є:

Мікроорганізми: бактерії, дріжджі, гриби, найпростіші. Мікроорганізми використовуються для ферментації, біосинтезу, та інших біологічних процесів для виробництва різних біопрепаратів, включаючи антибіотики, ферменти, вітаміни тощо. Бактерії є одними з найважливіших об'єктів технології біопрепаратів. Вони використовуються для виробництва різноманітних біологічно активних речовин, які застосовуються в медицині, сільському господарстві, харчовій промисловості та інших галузях.

Бактерії використовуються для виробництва багатьох лікарських препаратів. Наприклад, антибіотики - це речовини, які пригнічують ріст і розмноження бактерій. Антибіотики широко застосовуються для лікування інфекційних захворювань. Вакцини - це препарати, які містять ослаблені або загиблі мікроорганізми. Вакцини застосовуються для профілактики інфекційних захворювань. Сироватки - це препарати, які містять антитіла, які борються з інфекцією. Сироватки застосовуються для лікування інфекційних захворювань. Бактерії для виробництва біопрепаратів отримують з різних джерел, таких як

грунт, вода, рослини та тварини. Після отримання бактерії культивують в штучних середовищах. Для культивування бактерій використовують різні методи, такі як культивування в нерухомій фазі, культивування в рухомій фазі, культивування в анаеробних умовах. Після культивування бактерії виділяють з середовища культивування та очищають. Очищення бактерій може проводитися за допомогою різних методів, таких як центрифугування, фільтрація, адсорбція. Отримані чисті бактерії використовують для виробництва біопрепаратів. Біопрепарати можуть бути у вигляді рідини, порошку або гранул.

Рослини: лікарські рослини, кормові рослини, рослини-продуценти біологічно активних речовин. Рослини також є важливим об'єктом технології біопрепаратів. Вони використовуються для виробництва різноманітних біологічно активних речовин, які застосовуються в медицині, сільському господарстві, харчовій промисловості та інших галузях. Рослини використовуються для виробництва багатьох лікарських препаратів. Наприклад, алкалоїд атропін - це алкалоїд, який міститься в беладоні. Він має спазмолітичну дію і застосовується для лікування судом, спазмів кишечника та сечових шляхів. Серцеві глікозиди - це глікозиди, які містяться в рослинах родини жовтецевих. Вони мають діуретичну та кардіотонічну дію і застосовуються для лікування серцевої недостатності. Флавоноїди, наприклад, Флаваноли - це флавоноїди, які містяться в квасолі, горосі та бобах, можуть допомогти відновити пошкоджені клітини. Рослини для виробництва біопрепаратів отримують з різних джерел, таких як дикоростучі рослини, культурні рослини, лікарські рослини. Після отримання рослини переробляють для отримання біологічно активних речовин. Для переробки рослин використовують різні методи, такі як сушіння, подрібнення, екстракція, ферментація. Отримані біологічно активні речовини використовують для виробництва біопрепаратів. Біопрепарати можуть бути у вигляді рідини, порошку або гранул.

Тварини: тварини-продуценти сировини для біопрепаратів, тварини-продуценти біологічно активних речовин. Деякі тварини використовуються для виробництва сировини для біопрепаратів. Наприклад, молоко, кров, сеча, фекалії тварин використовуються для виробництва сировини для різних біопрепаратів. Наприклад, молоко, кров, сеча, фекалії тварин використовуються для виробництва сировини для різних біопрепаратів. Молоко використовується для виробництва сировини для різних біопрепаратів, таких як вакцини, сироватки, ферменти. Кров - це джерело білків, ферментів, гормонів, еритроцитів, лейкоцитів та інших компонентів. Кров використовується для виробництва сировини для різних біопрепаратів, таких як вакцини, сироватки, препарати для переливання крові. Також деякі тварини використовуються для виробництва біологічно активних речовин, таких як антитіла або гормони.

Біопрепарати мають широкий спектр застосувань у науці та промисловості завдяки їхнім унікальним властивостям і біологічним активностям. Ось деякі з основних областей, де вони застосовуються:

- **Фармацевтика:** біопрепарати використовуються для виробництва лікарських препаратів, вакцин, антитіл і інших медичних продуктів. Вони допомагають лікувати різні захворювання, включаючи інфекційні, онкологічні та імунні захворювання.
- **Біотехнологія:** грають ключову роль у галузі біотехнології для виробництва рекомбінантних білків, ферментів, гормонів і інших біологічних продуктів. Вони також використовуються для розробки нових методів досліджень та діагностики.
- **Сільське господарство:** можуть бути застосовані для підвищення врожайності та якості сільськогосподарських культур. Вони допомагають в боротьбі з хворобами рослин, шкідниками і стресовими умовами.
- **Продукти харчування:** біопрепарати використовуються для ферментації харчових продуктів, консервування, покращення текстури та смаку продуктів, а також для виробництва пробіотиків та функціональних харчових добавок.
- **Захист навколишнього середовища:** деякі біопрепарати використовуються для очищення води та ґрунту від забруднень токсичними речовинами та нафтою. Вони допомагають в збереженні природних ресурсів та захисті навколишнього середовища.
- **Косметологія:** у косметичній промисловості біопрепарати використовуються для створення натуральних та екологічно чистих косметичних засобів. Вони можуть бути включені в склад кремів, масок, шампунів та інших засобів для догляду за шкірою та волоссям.
- Біопрепарати є важливими реагентами для біологічних та медичних досліджень. Вони використовуються для вивчення біологічних процесів, генетичних досліджень, клітинних та молекулярних досліджень.

Методи технології біопрепаратів можна розділити на наступні групи:

Методи культивування мікроорганізмів:

1. Методи культивування в нерухомій фазі (бактерії, дріжджі). Культивування мікроорганізмів в нерухомій фазі - це процес, при якому мікроорганізми ростуть на твердій поверхні або в рідині, яка не перемішується. Методи культивування в нерухомій фазі можна розділити на два основних типи: культивування на твердій поверхні, культивування в рідині. При культивуванні на твердій поверхні мікроорганізми ростуть на поверхні твердого субстрату, такого як агар, целюлоза або синтетичні матеріали. Цей метод культивування широко використовується для виробництва бактеріальних культур, а також для культивування дріжджів та інших мікроорганізмів, які продукують біологічно активні речовини. Плоскопластінкові культури - це найпростіший метод

культивування на твердій поверхні. Мікроорганізми висіваються на тверду поверхню, наприклад, на агарову пластинку, і потім інкубуються при оптимальній температурі. При культивуванні в рідині мікроорганізми ростуть в рідині, яка не перемішується. Цей метод культивування використовується для виробництва бактерій, дріжджів та інших мікроорганізмів, які продукують біологічно активні речовини, які легко розчиняються у воді. Наприклад, фільтраційні культури - це метод культивування в рідині, при якому мікроорганізми ростуть на поверхні фільтра, який знаходиться в рідині. Цей метод дозволяє забезпечити більш рівномірний розподіл мікроорганізмів по поверхні.

2. *Методи культивування в рухомій фазі* (бактерії, дріжджі, гриби). Культивування мікроорганізмів в рухомій фазі - це процес, при якому мікроорганізми ростуть в рідині, яка перемішується. Існують два типи культивування. При субстратному культивуванні мікроорганізми ростуть в рідині, яка перемішується. Цей метод культивування широко використовується для виробництва бактерій, дріжджів та інших мікроорганізмів (наприклад, Дріжджі реактори - це реактори, в яких дріжджі ростуть в рідині, яка перемішується. Реактори можуть бути різних типів, таких як пропелерні, турбінні та імпульсні реактори).

3. *Методи культивування в штучних середовищах.* Культивування мікроорганізмів в штучних середовищах - це процес, при якому мікроорганізми ростуть в середовищі, яке не є природним для них. Штучні середовища розробляються таким чином, щоб забезпечити мікроорганізмам всі необхідні поживні речовини, мікроелементи, фактори росту та інші умови для їхнього росту та розвитку. Методи культивування в штучних середовищах можна класифікувати за такими ознаками:

За консистенцією середовища:

- ✓ Рідкі середовища - це середовища, які мають рідку консистенцію. Рідкі середовища широко використовуються для культивування бактерій, дріжджів та інших мікроорганізмів.
- ✓ Напіврідкі середовища - це середовища, які мають напіврідку консистенцію. Напіврідкі середовища використовуються для культивування грибів та інших мікроорганізмів, які потребують більшої кількості поживних речовин.
- ✓ Тверді середовища - це середовища, які мають тверду консистенцію. Тверді середовища використовуються для культивування мікроорганізмів, які не можуть рости в рідких середовищах.

За способом культивування:

- ✓ Субстратний культивування - це процес, при якому мікроорганізми ростуть в середовищі, яке не перемішується.
- ✓ Флуктуаційне культивування - це процес, при якому середовище періодично перемішується.
- ✓ Субстратний культивування в реакторах - це процес, при якому мікроорганізми ростуть в середовищі, яке перемішується в реакторі.

✓ *Методи культивування в природних середовищах.* Натуральні середовища - це середовища, які містять натуральні поживні речовини, такі як бульйони, молоко, м'ясо, рослинні екстракти тощо. Натуральні середовища використовуються для культивування мікроорганізмів, які є ектопаразитами або симбіонтами.

Методи переробки біологічної сировини:

- **Механічні методи** (механічна обробка, подрібнення, розтирання, фільтрація). Механічні методи культивування мікроорганізмів - це методи, при яких мікроорганізми культивуються в середовищі, яке піддається механічній обробці. Механічна обробка середовища може сприяти росту мікроорганізмів, підвищенню їхньої продуктивності та покращенню якості біологічно активних речовин.

Механічні методи культивування можна розділити на такі основні типи:

Механічна обробка - це метод, при якому середовище піддається механічній дії, наприклад, перемішуванню, струшуванню, вібрації тощо. Механічна обробка сприяє рівномірному розподілу поживних речовин і кисню в середовищі, що покращує умови для росту мікроорганізмів.

Подрібнення - це метод, при якому середовище подрібнюється на дрібні частинки. Подрібнення сприяє підвищенню поверхні середовища, що покращує доступ мікроорганізмів до поживних речовин і кисню.

Розтирання - це метод, при якому середовище розтирається між двома твердими поверхнями. Розтирання сприяє руйнуванню клітинних стінок мікроорганізмів, що покращує виділення біологічно активних речовин.

Фільтрація - це метод, при якому середовище пропускається через фільтр. Фільтрація дозволяє видалити з середовища сторонні домішки, що покращує якість біологічно активних речовин.

- **Фізичні методи** (висушування, екстракція, дистиляція, кристалізація). Фізичні методи культивування мікроорганізмів - це методи, при яких біологічно активні речовини виділяються з мікроорганізмів або середовища за допомогою фізичних процесів. Фізичні методи є одними з найпоширеніших методів культивування мікроорганізмів, оскільки вони є простими, ефективними та відносно недорогими.

Приклади фізичних методів культивування:

Висушування - це метод, який використовується для культивування бактерій, дріжджів та інших мікроорганізмів. Висушування може здійснюватися за допомогою різних пристроїв, таких як вакуумні сушарки, сублімаційні сушарки та інші.

Екстракція - це метод, який використовується для культивування грибів. Екстракція може здійснюватися за допомогою різних розчинників, таких як вода, спирт, ефір та інші.

Дистиляція - це метод, який використовується для культивування бактерій, які продукують біологічно активні речовини з високою температурою кипіння. Дистиляція може здійснюватися за допомогою різних дистиляторів, таких як колонні дистилятори, вакуумні дистилятори та інші.

Кристалізація - це метод, який використовується для культивування бактерій, які продукують біологічно активні речовини, що легко кристалізуються. Кристалізація може здійснюватися за допомогою різних методів, таких як охолодження, випарювання та інші.

- *Хімічні методи (гідроліз, ферментація, хімічна активація).* Хімічні методи культивування мікроорганізмів - це методи, при яких біологічно активні речовини виділяються з мікроорганізмів або середовища за допомогою хімічних реакцій. Хімічні методи можуть бути ефективними для виділення біологічно активних речовин, які не можуть бути виділені за допомогою фізичних методів.

Приклади хімічних методів культивування:

Гідроліз - це метод, який використовується для культивування бактерій, які продукують біологічно активні речовини, що містяться всередині клітин. Гідроліз може здійснюватися за допомогою кислот, лугів або ферментів.

Ферментація - це метод, який використовується для культивування грибів. Ферментація може здійснюватися за допомогою різних ферментів, таких як протеази, ліпази, амілази та інші.

Хімічна активація - це метод, який використовується для культивування бактерій, які продукують біологічно активні речовини, що є неактивними в природному вигляді. Хімічна активація може здійснюватися за допомогою різних хімічних речовин, таких як кислоти, луки або окислювачі.

Методи очищення біологічних продуктів:

- **Механічні методи (центрифугування, фільтрація, екстракція).** Механічні методи культивування мікроорганізмів - це методи, при яких біологічно активні речовини виділяються з мікроорганізмів або середовища за допомогою механічних процесів. Механічні методи є одними з найпоширеніших методів культивування мікроорганізмів, оскільки вони є простими, ефективними та відносно недорогими.

Приклади механічних методів культивування:

Центрифугування - це метод, який використовується для культивування бактерій, дріжджів та інших мікроорганізмів в рідких середовищах. Центрифугування може здійснюватися за допомогою різних центрифуг, таких як лабораторні центрифуги, промислові центрифуги та інші.

Фільтрація - це метод, який використовується для культивування грибів. Фільтрація середовища здійснюється за допомогою фільтрів, таких як паперові фільтри, мембранні фільтри та інші.

Екстракція - це метод, який використовується для культивування бактерій, які продукують біологічно активні речовини, що не розчиняються у воді. Екстракція може здійснюватися за допомогою різних розчинників, таких як спирт, ефір, хлороформ та інші.

- Фізичні методи (кристалізація, осадження, екстракція). Фізичні методи культивування мікроорганізмів - це методи, при яких біологічно активні речовини виділяються з мікроорганізмів або середовища за допомогою фізичних процесів. Фізичні методи є одними з найпоширеніших методів культивування мікроорганізмів, оскільки вони є простими, ефективними та відносно недорогими.

Приклади фізичних методів культивування:

- ✓ Кристалізація - це метод, який використовується для культивування бактерій, які продукують біологічно активні речовини, що легко кристалізуються. Кристалізація може здійснюватися за допомогою різних методів, таких як охолодження, випарювання та інші.

- ✓ Осадження - це метод, який використовується для культивування бактерій, які продукують біологічно активні речовини, що мають низьку розчинність. Осадження може здійснюватися за допомогою різних осаджувачів, таких як кислота, луг, спирт та інші.

- ✓ Екстракція - це метод, який використовується для культивування бактерій, які продукують біологічно активні речовини, що не розчиняються у воді. Екстракція може здійснюватися за допомогою різних розчинників, таких як спирт, ефір, хлороформ та інші.

- Хімічні методи (екстракція, адсорбція, хроматографія). Хімічні методи культивування мікроорганізмів - це методи, при яких біологічно активні речовини виділяються з мікроорганізмів або середовища за допомогою хімічних реакцій. Хімічні методи можуть бути ефективними для виділення біологічно активних речовин, які не можуть бути виділені за допомогою фізичних методів.

Приклади хімічних методів культивування:

- Екстракція - це метод, який використовується для культивування бактерій, які продукують біологічно активні речовини, що не розчиняються у воді. Екстракція може здійснюватися за допомогою різних розчинників, таких як спирт, ефір, хлороформ та інші.

- Адсорбція - це метод, який використовується для культивування грибів. Адсорбція може здійснюватися за допомогою різних адсорбентів, таких як активний вугіль, оксид алюмінію та інші.

- Хроматографія - це метод, який використовується для культивування бактерій, які продукують біологічно активні речовини, що мають різні фізичні і хімічні властивості. Хроматографія може здійснюватися за допомогою різних хроматографічних методів, таких як рідинна хроматографія, газова хроматографія та інші.

Аналітичні методи дослідження в технології біопрепаратів

Для оцінки якості біопрепаратів використовують різні аналітичні методи. До основних аналітичних методів дослідження в технології біопрепаратів відносяться:

Методи фізичного аналізу

Визначення фізичних властивостей (маса, об'єм, в'язкість, температура плавлення, температура кипіння). Методи фізичного аналізу дозволяють оцінити основні фізичні властивості біопрепаратів, такі як маса, об'єм, в'язкість, температура плавлення, температура кипіння. Ці методи також можуть використовуватися для визначення структури біопрепаратів за допомогою ультразвукового дослідження або мікроскопії

1. *Визначення структури (ультразвукове дослідження, мікроскопія).* Визначення структури біопрепаратів дозволяє зрозуміти, як вони складаються. Ця інформація може бути корисною для розробки нових біопрепаратів і для підвищення ефективності їхнього використання. Ультразвукове дослідження - це метод, який дозволяє отримувати зображення біопрепаратів за допомогою ультразвукових хвиль. Мікроскопія - це метод, який дозволяє отримувати зображення біопрепаратів за допомогою мікроскопа.

2. *Визначення хімічного складу (спектроскопія, мас-спектрометрія).* Визначення хімічного складу біопрепаратів дозволяє зрозуміти, які речовини містяться в них. Ця інформація може бути корисною для оцінки якості біопрепаратів і для розробки нових методів їхнього виробництва. Спектрометрія - це метод, який дозволяє визначати хімічний склад речовин за їхньою спектральною характеристикою. Масова спектрометрія - це метод, який дозволяє визначати масу молекул речовини.

Методи біохімічного аналізу

Методи біохімічного аналізу - це методи, які використовуються для визначення складу, структури та функцій біологічних молекул. Біохімічний аналіз є важливим інструментом для дослідження біологічних процесів і для оцінки якості біопрепаратів.

1. *Визначення активності ферментів.* Ферменти - це біологічні каталізатори, які прискорюють хімічні реакції в живих організмах. Активність ферментів може бути визначена за допомогою різних методів, таких як: спектрофотометрія - це метод, який дозволяє визначати кількість ферменту за його поглинанням світла, термометрія - це метод, який дозволяє визначати активність ферменту за зміною

температури, кінетика - це метод, який дозволяє визначати швидкість реакції, каталізованої ферментом.

2. *Визначення вмісту біологічно активних речовин.* Біологічно активні речовини - це речовини, які мають важливе значення для життєдіяльності організму. До біологічно активних речовин відносяться ферменти, гормони, антибіотики та інші. Вміст біологічно активних речовин може бути визначений за допомогою різних методів, таких як: спектрофотометрія - це метод, який дозволяє визначати кількість речовини за її поглинанням світла, хроматографія - це метод, який дозволяє розділяти речовини на основі їхніх фізичних і хімічних властивостей, імунологічний аналіз - це метод, який дозволяє визначати речовини за допомогою їхнього взаємодії з антитілами.

Методи мікробіологічного аналізу

Методи мікробіологічного аналізу - це методи, які використовуються для визначення кількості та видового складу мікроорганізмів. Мікробіологічний аналіз є важливим інструментом для оцінки якості біопрепаратів, оскільки він дозволяє визначити наявність патогенних мікроорганізмів та інших мікроорганізмів, які можуть негативно впливати на якість та ефективність біопрепарату.

1. *Визначення кількості мікроорганізмів.* Кількість мікроорганізмів може бути визначена за допомогою різних методів, таких як:

- Метод прямого підрахунку - це метод, при якому мікроорганізми підраховуються під мікроскопом.

- Метод титрувального визначення - це метод, при якому кількість мікроорганізмів визначається за допомогою їхньої здатності розкладати певну речовину.

- Метод кількісного культивування - це метод, при якому мікроорганізми культивуються в певних умовах і потім підраховуються.

2. *Визначення видового складу мікроорганізмів.* Видовий склад мікроорганізмів може бути визначений за допомогою різних методів, таких як:

- Метод мікроскопії - це метод, при якому мікроорганізми ідентифікуються за їхніми зовнішніми ознаками під мікроскопом.

- Метод культуральних досліджень - це метод, при якому мікроорганізми культивуються в певних умовах і потім ідентифікуються за їхніми культуральними ознаками.

- Метод біохімічних досліджень - це метод, при якому мікроорганізми ідентифікуються за їхніми біохімічними ознаками.

Вибір методів дослідження залежить від виду біопрепарату, його призначення та поставлених завдань.

Приклади застосування мікробіологічного аналізу для оцінки якості біопрепаратів

- Для оцінки безпеки біопрепаратів - мікробіологічний аналіз використовується для визначення наявності патогенних мікроорганізмів у біопрепараті.

- Для оцінки ефективності біопрепаратів - мікробіологічний аналіз використовується для визначення здатності біопрепарату пригнічувати або знищувати патогенні мікроорганізми.

- Для оцінки якості виробництва біопрепаратів - мікробіологічний аналіз використовується для контролю чистоти середовища культивування і технологічного процесу.

- **Питання (тестові завдання, задачі, клінічні ситуації) для перевірки базових знань за темою заняття:**

Відповіді на питання

1. Яка галузь науки і техніки вивчає технологію біопрепаратів і її основні аспекти? Які об'єкти використовуються в технології біопрепаратів і які цілі вони можуть служити? Які мікроорганізми використовуються для виробництва біопрепаратів і які продукти можуть бути отримані з їхньою участю?

2. Для чого використовуються бактерії у виробництві біопрепаратів і які конкретні препарати можуть бути отримані за їхньою допомогою? Якими методами культивують і очищають бактерії для виробництва біопрепаратів?

3. Які рослини використовуються для виробництва біологічно активних речовин і які лікарські препарати можуть бути отримані з рослин?

4. Які методи переробки рослин використовуються в технології біопрепаратів?

5. Які тварини використовуються як джерело сировини для біопрепаратів і які продукти можуть бути отримані з їхньою участю?

6. Для яких галузей науки та промисловості мають важливе значення біопрепарати, і які основні області їхнього застосування? Які конкретні продукти та медичні засоби можуть бути вироблені за допомогою біопрепаратів у фармацевтиці?

7. Якими методами культивування мікроорганізмів можна виділити у технології біопрепаратів, і в яких випадках кожен метод застосовується? Які особливості методів культивування мікроорганізмів в нерухомій фазі, і які вони мають переваги і недоліки?

8. Якими основними задачами і перевагами відрізняються методи культивування мікроорганізмів в штучних середовищах, і в яких випадках вони використовуються?

9. Які основні методи переробки біологічної сировини існують? Які основні типи механічних методів культивування мікроорганізмів використовуються? Які переваги механічної обробки середовища для культивування мікроорганізмів?

10. Які фізичні методи використовуються для виділення біологічно активних речовин з мікроорганізмів або середовища? Які приклади фізичних методів культивування мікроорганізмів ви можете навести?
11. Як відбувається процес кристалізації при культивуванні бактерій, що продукують кристалізовані біологічно активні речовини?
12. Як використовується метод висушування в культивуванні бактерій і дріжджів?
13. Які основні групи аналітичних методів використовуються для оцінки якості біопрепаратів? Які фізичні властивості біопрепаратів можна визначити за допомогою методів фізичного аналізу?
14. Які методи біохімічного аналізу дозволяють визначити активність ферментів у біопрепаратах? Які методи визначення вмісту біологічно активних речовин застосовуються в біохімічному аналізі біопрепаратів?
15. Які завдання вирішуються за допомогою мікробіологічного аналізу в оцінці якості біопрепаратів? Як залежить вибір методів дослідження від виду біопрепарату та його призначення?

3. Формування професійних вмінь, навичок (проведення практичного завдання):

- **зміст завдань (завдання);**

Завдання 1

Завдання 1. Ознайомитися з основними методами технології біопрепаратів.

Питання	Відповідь
1. Дати визначення поняттям «технологія біопрепаратів».	
2. Охарактеризувати основні етапи технології біопрепаратів.	
3. Навести приклади технологічних процесів виробництва біопрепаратів.	

Завдання 2. Ознайомитися з основними аналітичними методами дослідження в технології біопрепаратів.

Питання	Відповідь
1. Дати визначення поняттям «аналітичні методи дослідження»	
2. Охарактеризувати основні групи аналітичних методів дослідження в технології біопрепаратів.	
3. Навести приклади застосування	

аналітичних методів дослідження в технології біопрепаратів.	
---	--

Завдання 3. Ознайомитися з методами фізичного аналізу біопрепаратів.

Питання	Відповідь
1. Дати визначення поняттям «фізичний аналіз».	
2. Охарактеризувати основні методи фізичного аналізу біопрепаратів.	
3. Навести приклади застосування методів фізичного аналізу біопрепаратів.	

Завдання 4. Ознайомитися з методами біологічного аналізу біопрепаратів

Питання	Відповідь
1. Дати визначення поняттям «біологічний аналіз».	
2. Охарактеризувати основні методи біологічного аналізу біопрепаратів.	
3. Навести приклади застосування методів біологічного аналізу біопрепаратів.	

- рекомендації щодо виконання завдання;

Згідно з ходом практичного заняття провести оформлення індивідуального завдання у своєму робочому зошиті.

- вимоги до результатів роботи, в тому числі до оформлення;

Індивідуальне робоче завдання заповнюється у робочий зошит та здається на перевірку викладачеві.

- матеріали контролю для заключного етапу заняття: задачі, завдання, тести тощо:

1. Які об'єкти використовуються в технології біопрепаратів і які цілі вони можуть служити?

- a) Тільки бактерії для виробництва антибіотиків
- b) Мікроорганізми, рослини і тварини для виробництва біологічно активних речовин
- c) Тільки рослини для виробництва харчових продуктів
- d) Тільки тварини для виробництва шерсті та м'яса

2. Які мікроорганізми використовуються для виробництва біопрепаратів і які продукти можуть бути отримані з їхньою участю?

- a) Тільки бактерії для виробництва антибіотиків
- b) Мікроорганізми для ферментації та біосинтезу продуктів

с) Гриби для виробництва вітамінів

д) Всі вищезазначені відповіді

3. Для чого використовуються бактерії у виробництві біопрепаратів і які конкретні препарати можуть бути отримані за їхньою допомогою?

а) Бактерії використовуються для виробництва вакцин

б) Бактерії використовуються для виробництва таблеток

с) Бактерії використовуються для виробництва сирів

д) Бактерії не використовуються в технології біопрепаратів

4. Якими методами культивують і очищають бактерії для виробництва біопрепаратів?

а) Тільки культивування в нерухомій фазі

б) Тільки центрифугування для очищення

с) Різні методи культивування та очищення

д) Бактерії культивуються в природних умовах без очищення

5. Які рослини використовуються для виробництва біологічно активних речовин і які лікарські препарати можуть бути отримані з рослин?

а) Тільки дикоростучі рослини для виробництва вакцин

б) Тільки культурні рослини для виробництва ферментів

с) Рослини-продуценти біологічно активних речовин, такі як алкалоїди та серцеві глікозиди

д) Тільки харчові рослини для виробництва продуктів харчування

6. Які тварини використовуються як джерело сировини для біопрепаратів і які продукти можуть бути отримані з їхньою участю?

а) Тільки дикий вид звірів для виробництва м'яса

б) Тільки домашні тварини для виробництва молока

с) Тільки домашні тварини для виробництва шерсті

д) Молоко, кров, сеча, фекалії тварин використовуються для виробництва сировини для різних біопрепаратів

7. Як використовується молоко, кров та інші компоненти тварин для виробництва біопрепаратів?

а) Тільки для виробництва одягу

б) Тільки для виробництва молочних продуктів

с) Для виробництва сировини для різних біопрепаратів, таких як вакцини та сироватки

д) Не використовується в технології біопрепаратів

8. У якій галузі використовуються біопрепарати для створення натуральних косметичних засобів?

а) Тільки у виробництві парфумів

б) Тільки у виробництві макіяжу

с) У косметології для створення натуральних та екологічно чистих косметичних засобів

д) Тільки для виробництва хімічних консервантів

9. Для чого використовуються біопрепарати у біологічних та медичних дослідженнях?

а) Тільки для природознавчих досліджень

б) Тільки для аналізу геологічних зразків

с) Для вивчення біологічних процесів, генетичних досліджень, клітинних та молекулярних досліджень

д) Тільки для виробництва нових видів тварин

10. Які методи культивування мікроорганізмів можна виділити в технології біопрепаратів?

а) Тільки методи культивування в нерухомій фазі

б) Тільки методи культивування в рухомій фазі

с) Тільки методи культивування в штучних середовищах

д) Методи культивування в нерухомій фазі, в рухомій фазі та в штучних середовищах

11. Які основні типи методів культивування мікроорганізмів в нерухомій фазі?

а) Тільки культивування на твердій поверхні

б) Тільки культивування в рідині

с) Культивування на твердій поверхні та культивування в рідині

д) Культивування в рухомій фазі

12. Для чого використовуються методи культивування мікроорганізмів в рухомій фазі?

а) Тільки для виробництва бактеріальних культур

б) Тільки для культивування грибів

с) Для виробництва бактеріальних культур, дріжджів та інших мікроорганізмів

д) Для виробництва хімічних реакторів

13. Для яких мікроорганізмів застосовується метод дистиляції?

а) Бактерій з високою температурою кипіння

б) Грибів

с) Дріжджів

д) Мікроорганізмів, що продукують кристалізовані біологічно активні речовини

14. Який метод використовується для культивування бактерій, які продукують біологічно активні речовини, що легко кристалізуються?

а) Висушування

б) Екстракція

с) Дистиляція

д) Кристалізація

15. Які переваги має механічна обробка середовища для культивування мікроорганізмів?

- a) Збільшення температури середовища
- b) Зниження рівня кисню
- c) Рівномірний розподіл поживних речовин і кисню
- d) Зменшення доступу мікроорганізмів до поживних речовин

16. Які методи відносяться до фізичних методів культивування мікроорганізмів?

- a) Механічна обробка і подрібнення
- b) Екстракція і дистиляція
- c) Розтирання і фільтрація
- d) Кристалізація і висушування

17. Для чого використовуються методи мікробіологічного аналізу в оцінці якості біопрепаратів?

- a) Визначення хімічного складу
- b) Визначення активності ферментів
- c) Визначення видового складу мікроорганізмів
- d) Визначення фізичних властивостей

18. Які методи мікробіологічного аналізу використовуються для визначення видового складу мікроорганізмів?

- a) Спектроскопія
- b) Мікроскопія
- c) Культуральні дослідження
- d) Термометрія

19. Для чого використовуються методи спектроскопії та мас-спектрометрії?

- a) Визначення структури біопрепаратів
- b) Визначення активності ферментів
- c) Визначення хімічного складу біопрепаратів
- d) Визначення кількості мікроорганізмів

20. Які методи дослідження використовуються для оцінки фізичних властивостей біопрепаратів?

- a) Спектроскопія
- b) Ультразвукове дослідження
- c) Імунологічний аналіз
- d) Термометрія

4. Підведення підсумків.

Повідомлення поточних оцінок, зауваження викладача відносно підготовки студентів до практичного заняття, оголошення наступної теми заняття.

5. Список рекомендованої літератури:

Основна:

1. Spada. G. Walsh Directory of Approved Biopharmaceutical Products 1st Edition . – CRC Press, 2019. – 336 p.
2. С. Kokare PHARMACEUTICAL BIOTECHNOLOGY 1st Edition. – NiraliPrakashan, 2017. – 274.
3. Лихач А. В. Промислова біотехнологія / А. В. Лихач. – МНАУ. – 2016. – 116 с.

Додаткова:

1. Determination of Candida albicans proteins concentration by enzyme-linked immunosorbent assay method at subcutaneous introduction in candidiasis therapy / MykolaRybalkin, Natalia Khokhlenkova, Julia Azarenko ,TetianaDiadiun // PHARMACIA (Bulgaria), 2020, 67 (4), P. 393-396. DOI 10.3897/pharmacia.67.e52568
5. Kaliuzhnaia O.S. Investigation of the use of fluoroplastic filter elements in the production of a promising antibiotic substance Pyocyanin / Kaliuzhnaia O.S., Kaliuzhnyi O.B., Soloviova A.V. Технічний сервіс агропромислового, лісового та транспортно-логістичного комплексів. № 18, 2020. ISBN 978-1-9993071-4-1
6. КалюжнаяО.С. Використання фторопластових фільтруючих елементів у біотехнологічному виробництві антибіотичних речовин. Технічний сервіс агропромислового, лісового та транспортно-логістичного комплексів. № 19, 2020. ISBN 978-1-9993071-4-1
7. Біотехнологічні дослідження при розробці льодяників з пробіотиками/ Старущенко У.А., Ярова Л.О., Калюжная О.С., Хохленкова Н.В., Калюжный О.Б. Вісникфармації. № 1 (101), 2021. –С. 38-43. ISSN 2415-8844
8. Стрілець О.П. Paramecium caudatum як тест-об'єкт у біотестуванні / О.П. Стрілець, Л.С. Стрельников. Новітні досягненнябіотехнології: Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 15-річчю кафедри біотехнології Національного авіаційного університету (23 вересня 2020 р., Київ). – К.:НАУ, 2020. – – С.53-54.
9. Стрілець О.П. Биотехнологічне тестування за допомогою найпростіших / О.П.Стрілець, Л.С. Стрельников. Science, engineering and technology: globaltrends, problems and solutions: International scientific and practical conference, September 25-26, 2020, Prague, 2020. P.2. – P. 52-54.
10. Зима Е.П. Перспективність розробки пігментів на основі технологій мікробного синтезу / ЗимаЕ.П., КалюжнаяО.С. // Topical issues of new medicines development: Матеріали XXVIII Міжнародної науково-практичної конф. молодихученихтастудентівприсвяченої 150-річчю з дня народження М.О.Валяшка (18-19 березня 2021 р., м. Харків). – Харків: НФаУ, 2021. – С. 226-228.

11. Kushka R.O., Dvinskykh N.V. Bacteriophages – as an essential alternative to antibiotics // Topical issues of new medicines development: матеріали XXVIII Міжнародної науково-практичної конференції молодих учених та студентів присвяченої 150-річчю з дня народження М.О. Валяшка (18-19 березня 2021 р., м. Харків). – Харків: НФаУ, 2021. – С. 212-213.

12. Fesenko L. O., Dvinskykh N.V. Prospect of production biologically of active additives of probiotics // Topical issues of new medicines development: матеріали XXVIII Міжнародної науково-практичної конференції молодих учених та студентів присвяченої 150-річчю з дня народження М.О. Валяшка (18-19 березня 2021 р., м. Харків). – Харків: НФаУ, 2021. – С. 210-211.

13. Половко Н.П. Оцінка біофармацевтичних факторів при розробці та виробництві нових лікарських засобів/Н.П. Половко, Л.І.Вишневіська, О.С.Шпичак // Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології : збірник наукових праць, випуск 2. – Х.: Вид-во НФаУ, 2017. – С. 155-160.

Електронні інформаційні ресурси:

1. Сайт кафедри фармацевтичної хімії та технології ліків ОНМедУ Технологія ліків ОНМедУ (odmu.edu.ua)

2. Бібліотека ОНМедУ (odmu.edu.ua) - Наукова бібліотека ОНМедУ

3. www.moz.gov.ua – офіційний сайт Міністерства охорони здоров'я України

4. Одеський національний медичний університет (onmedu.edu.ua) – офіційний сайт ОНМедУ

5. Державний реєстр лікарських засобів України. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.drlz.com.ua/> – станом на 10.01.2017 р

Практичне заняття № 2

Тема: «Біотехнологічні методи одержання білків» – 2 год.

Мета: ознайомитися з біотехнологічними методами одержання білків, різноманітними технологіями ефективного та масового виробництва білків з різних джерел, включаючи мікроорганізми, рослини, тварини та штучні системи.

Обладнання: методичні рекомендації, підручники.

План

1. Організаційний момент (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація студентів щодо вивчення теми).

2. Контроль опорного рівня знань (письмова робота, фронтальне опитування тощо):

- **вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять** (вимоги до знань, перелік дидактичних одиниць)

Білки - це високомолекулярні органічні сполуки, що складаються з амінокислот. Білки відіграють важливу роль у життєдіяльності організмів. Вони є структурними елементами клітин, беруть участь у всіх життєво важливих процесах, таких як синтез ДНК і РНК, транспорт речовин, імунні реакції та ін. Біотехнологічні методи одержання білків - це методи, що використовують живі організми або їхні продукти для отримання білків.

Застосування біотехнологічних методів у виробництві білків:

Фармацевтика: біотехнологія білків використовується для виробництва лікарських препаратів, включаючи біологічні препарати, вакцини та біологічні агенти для лікування різних захворювань.

Промислові застосування: рекомбінантні білки використовуються в харчовій промисловості для виробництва ферментів для покращення якості та обробки продуктів, а також в біотехнологічних процесах для виробництва біопалива та інших продуктів.

Наукові дослідження: біотехнологія білків використовується для вивчення структури та функцій білків, а також для дослідження біохімічних процесів у клітинах та організмах.

Сільське господарство: біотехнологічні методи використовуються для поліпшення сортів рослин та тварин, а також для виробництва біологічних добрив та пестицидів

Біотехнологія білків – це галузь біотехнології, яка використовує біологічні системи для виробництва та модифікації білків для різних цілей, включаючи медичнське використання, наукові дослідження та промислові застосування.

Мікроорганізми – продуценти білка

Дріжджі використовуються у різноманітних мікробіологічних процесах і є дуже перспективними продуцентами білка. Для одержання кормової білкової біомаси використовують різні раси дріжджів, але найчастіше - культури родів *Candidia*, *Torulopsis* і *Saccharomyces*. Ці роди мають здатність використовувати як гексози, так і пентози й органічні кислоти. У процесі виробництва вони швидко адаптуються до токсичних та інгібуючих речовин. Добре ростуть при рН 4,2- 4,4. Традиційними для культивування дріжджів є вуглецеві субстрати (м'яса, гідролізати деревини, молочна сироватка, відходи крохмального виробництва і сільського господарства). Нетрадиційна сировина - дистиляти нафти, н-алкани, синтетичний етанол і метанол тощо. Дріжджі як продуценти білка мають низку переваг порівняно з іншими мікроорганізмами: спосіб їх культивування в промислових умовах достатньо відпрацьований; клітини дріжджів більші за клітини бактерій, що полегшує сепарацію; поживна цінність і гігієнічні якості біомаси добре вивчені. Вміст поживних речовин у дріжджовій біомасі залежить від виду дріжджів, умов культивування і субстрату. Кількість білка коливається від 40 до 60 % від сухої речовини біомаси. За якістю білка дріжджі, як і інші мікроорганізми, значно перевершують рослинні корми і

прирівнюються до білків тваринного походження. Так, кормові дріжджі містять у 5 разів більше білка (в тому числі лізину - в 10, метіоніну - у 5 разів і триптофану - тричі), ніж ячмінь. Особливу цінність кормовим дріжджам надає наявність в них комплексу вітамінів групи В, які беруть участь в розщепленні вуглеводів з виділенням енергії. За вмістом цих вітамінів дріжджі перевершують усі протеїнові корми рослинного і тваринного походження. Поряд з позитивними якостями дріжджі мають і деякі недоліки. Білок дріжджів бідний на сірковмісні амінокислоти (вміст метіоніну удвічі-тричі менший, ніж у м'ясному білку) і містить порівняно велику кількість (3-6 %) нуклеїнових кислот. Клітини дріжджів мають міцну оболонку, що ускладнює доступ харчотравних ферментів до поживних речовин клітин і їх потрібно дезінтегрувати (руйнувати).

Непатогенні бактерії. Бактерії як продуценти білка привертають увагу великою швидкістю росту: вони ростуть у середньому в 4 рази швидше дріжджів і майже в 30 разів швидше водоростей. Перевагою також є більш високий вміст білка порівняно з іншими мікроорганізмами - 60-83 % від сухої речовини, а також амінокислот метіоніну і цистину порівняно з дріжджами. Стінки клітин бактерій легше руйнуються. До основних недоліків бактерій можна зарахувати високий рівень в білку нуклеїнових кислот (до 25 %), наявність в клітинах низку компонентів, нешкідливості яких для тварин викликає сумнів (циклопропанові і мультирозгалужені жирні кислоти, полі- β -оксимаєляна кислота, α -амінокислоти тощо); більш низький коефіцієнт виходу біомаси і порівняно складний процес виділення її з культурального середовища через малий розмір клітин.

Плісняві гриби невибагливі до умов культивування і ростуть у різних умовах кислотності, температури і осмотичного тиску. Відмінною особливістю мікроскопічних грибів є їх здатність синтезувати комплекс гідролітичних ферментів, які можуть утилізувати складні поліцукри і лігнін, що є малодоступними для інших мікроорганізмів. Це створює можливість прямої трансформації целюлозо- і крохмалевмісних субстратів у білок і робить мікроскопічні гриби перспективними продуцентами мікробного білка з відходів сільського і лісового господарства та деяких галузей харчової промисловості. Як продуценти білка, амінокислот, вітамінів та інших біологічно активних речовин використовують гриби родів *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma* тощо. Грибний білковий продукт має низку переваг: він містить ароматичні речовини, які надають йому приємного запаху; нитчаста природа грибного білка забезпечує відносно легке відокремлення біомаси під час промислового виробництва; амінокислотний склад відзначається більш високим рівнем сірковмісних амінокислот і наближається до амінокислотного складу м'яса; грибний білок містить незначні кількості (1-4 %) нуклеїнових кислот; клітинна стінка грибів тонка, завдяки чому білок легко перетравлюється без попередньої обробки. Перспективні як продуценти для одержання кормових білків. Грибні препарати використовуються для підвищення перетравності грубих кормів і збагачення їх різними біологічно активними речовинами. До недоліків грибів належить порівняно низький рівень протеїну, який коливається в широких межах (20-60 % від сухої речовини) і відносно повільний ріст - швидкість подвоєння біомаси грибів складає 4-16 год, дріжджів - 2-3 год.

Мікрводорості. Одноклітинні водорості є фототрофними мікроорганізмами й потребують для росту відмінних умов, порівняно з іншими мікроорганізмами - продуцентами білків. Для їх росту необхідно: світло, достатня кількість вуглекислого газу, мінеральних речовин і певний температурний режим, а сам процес потребує значних об'ємів води. Серед великої кількості видів одноклітинних водоростей найбільш прийнятними продуцентами є зелені протококові водорості роду *Chlorella* і *Scenedesmus*, а також синьо-зелена спіралеподібна водорість *Spirulina*. Розмір спіруліни приблизно в 100 разів більший, ніж хлорели і сценедесмуса - 500 мкм. Вона добре росте в лужному середовищі з рН 9-11, а хлорела і сценедесмус - у середовищі, близькому до нейтрального. Протококові водорості мають міцну целюлозну оболонку, а у спіруліни її немає. Мікрводорості у штучних умовах культивують в основному на мінеральних середовищах, але вони добре ростуть і на стічних водах, гнойовій біомасі, у солоних, прісних і лужних водоймищах (спіруліна). Мікрводорості належать до організмів з активним біосинтезом білків, вітамінів, жироподібних та інших біологічно активних речовин. Вміст білка у зелених водоростей складає 45-55 %, а у спіруліни - 60 %. Білок мікрводоростей має у своєму складі усі (10) незамінні амінокислоти. За вмістом цих амінокислот його можна порівняти з білком кормових дріжджів і сої. Натомість білок водоростей має низький вміст сірковмісних амінокислот, а білок спіруліни ще й низький вміст лізину і досить високий вміст нуклеїнових кислот.

Світовий досвід показує, що біомаса водоростей за вмістом протеїну перевищує соєву дерть (40-65 % проти 35-40 % відповідно), але поступається перед соєю за вмістом жиру (2-15 % проти 15-20 % відповідно). Але рівень збалансованості протеїну біомаси водоростей за амінокислотами виявився нижчим порівняно з білком сої. Перетравність протеїну протококових водоростей коливається в межах 45-46 % через міцну їх оболонку, а спіруліни - 70 %. Біомаса мікрводоростей багата каротином (1500 мг/кг сухої біомаси, що у 7-9 разів більше, ніж у трав'яній муці вищої якості з люцерни), містить багато вітамінів, макро- і мікроелементів. Хімічний склад мікрводоростей лабільний і визначається значною мірою умовами їх культивування. Змінюючи склад поживного середовища й інші умови (температуру, освітлення) можна підвищувати в мікрводоростях вміст білка від 8 до 60 %, вуглеводів - від 6 до 37 %, ліпідів - від 5 до 85 %. Серед мікрводоростей більш перспективною для одержання білка є спіруліна, біомаса якої містить в середньому 65 % білка, однак у білку міститься мало лізину.

Незалежно від виду сировини, яка використовується, технологія одержання білка шляхом накопичення біомаси мікроорганізмів (дріжджів, бактерій, мікроскопічних грибів) має загальну технологічну схему (рис. 1). Основною серед етапів технології є стадія ферментації, а головним апаратом є ферментер, у якому відбувається ріст і розвиток мікроорганізмів-продуцентів. Під ферментацією мають на увазі всю сукупність послідовних операцій від внесення у заздалегідь підготовлене живильне середовище продуцента і до завершення процесів росту, біосинтезу або біотрансформації внаслідок

вичерпування поживних елементів середовища, припинення біосинтезу, втрати активності культурою або з інших причин.

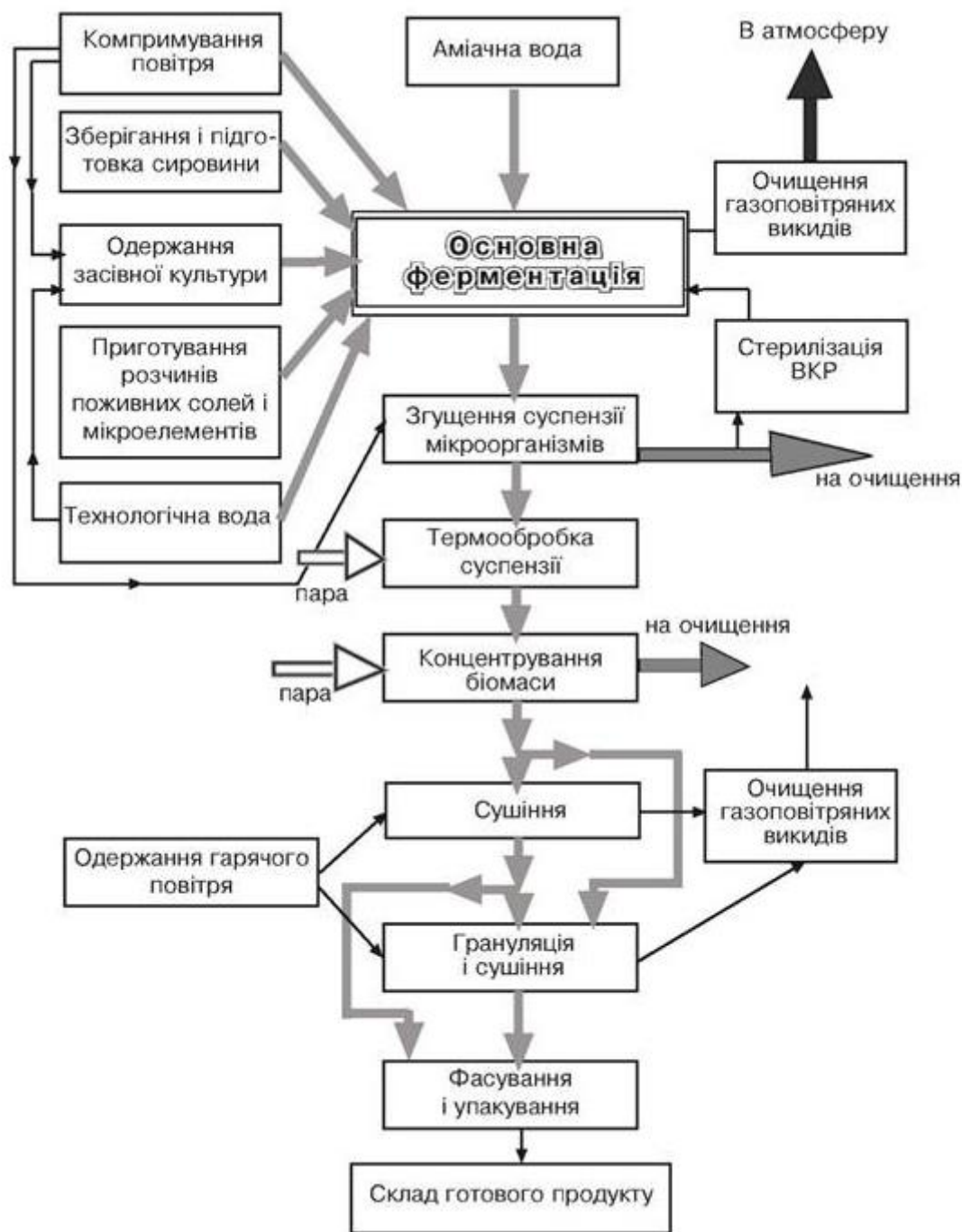


Рис. 1 Принципова технологічна схема одержання кормової біомаси

У ферментер з культурою мікроорганізмів постійно подається органічна сировина (джерело вуглецю), розчини мінеральних солей, аміак і повітря, а з ферментера відбирається суспензія клітин у водному середовищі. Клітини відділяють від водного розчину сепарацією, обробляють теплом і висушують. Продукт може бути випущений у пилоподібній або гранульованій формі. Вміст білка в продукті складає 50-66 %. Повноцінність виробленого мікробного білка визначається за вмістом лізину (незамінної амінокислоти). У дріжджах його міститься з розрахунку на білок близько 10 % (для порівняння - вміст лізину в сої становить трохи більше 6 %).

Обов'язковою стадією технологічної схеми одержання білкових речовин є процес очищення газоповітряних викидів (ГПВ), в яких містяться живі клітини мікроорганізмів, білковий пил та інші продукти білкового синтезу.

Отримання мікробного білка на відходах переробки нафти

Ще донедавна вуглеводні нафти (очищені н-парафіни і нафтові дистилляти) були одним із перспективних джерел сировини для одержання кормового білка. Їх засвоює особлива група мікроорганізмів, до складу яких входить не менше тисячі видів. Вченими було встановлено, що здатність використовувати нафту і нафтопродукти мають багато бактерій і мікроскопічних грибів, які розповсюджені на ґрунті нафтових родовищ та промислів. Ще донедавна вуглеводні нафти (очищені н-парафіни і нафтові дистилляти) були одним із перспективних джерел сировини для одержання кормового білка. Їх засвоює особлива група мікроорганізмів, до складу яких входить не менше тисячі видів. Вченими було встановлено, що здатність використовувати нафту і нафтопродукти мають багато бактерій і мікроскопічних грибів, які розповсюджені на ґрунті нафтових родовищ та промислів.

Отримання мікробного білка на метанолі та етанолі

Метанол вважається найперспективнішим субстратом для одержання мікробного білка. Основними перевагами цього субстрату є висока чистота метанолу, добра його розчинність у воді, висока леткість, яка дозволяє легко видаляти його залишки із готового продукту. Крім того, мікробна біомаса, одержана на метанолі, не містить небажаних домішок, що дає змогу уникнути в технологічному процесі стадії очищення. Недоліком метанолу як субстрату є його горючість і можливість утворення з повітрям вибухонебезпечних сумішей у діапазоні концентрації 6-35 % (за об'ємом), а також високу токсичність метанолу, що вимагає при роботі з ним дотримання правил техніки безпеки.

Мікроорганізмами-продуцентами є як дріжджові, так і бактеріальні штами. Із дріжджів використовуються *Candida boidinii*, *Hansenula polymorpha* і *Pichia pastoris*, а з бактеріальних культур - *Methylomonas clara*, *Pseudomonas rosea* та інші. Одержані на метанолі кормові дріжджі (меприн) містять 56-62 % сирого протеїну, а бактеріальна біомаса - 70-74 %.

Етанол як субстрат для одержання мікробного білка має такі переваги: мала токсичність, добра розчинність у воді, досить висока летючість, невелика кількість домішок і можливість легкої його утилізації практично всіма мікроорганізмами. Крім того, за рахунок наявності в молекулі спирту кисню, потреба в кисні або повітрі нижча, а звідси менші тепловиділення й інтенсивність аерації. Етанол як субстрат для одержання мікробного білка має такі переваги: мала токсичність, добра розчинність у воді, досить висока летючість, невелика кількість домішок і можливість легкої його утилізації практично всіма мікроорганізмами. Крім того, за рахунок наявності в молекулі спирту кисню, потреба в кисні або повітрі нижча, а звідси менші тепловиділення й інтенсивність аерації.

Отримання мікробного білка на гідролізатах рослинних відходів

Суть цієї технології одержання білка - це кислотний гідроліз рослинних поліцукрів до пентоз і гексоз (при одностадійному гідролізі), або тільки до

пентоз і тільки до гексоз (при двостадійному гідролізі), які можуть використовуватись або безпосередньо як джерело вуглецю і енергії для вирощування дріжджів, або з названих моноцукрів одержують етанол з подальшою його трансформацією у дріжджову біомасу. Основними промисловими штамми-продуцентами є різні види дріжджів - *Candidia utilis*, *C. scottii* і *C. tropicalis*, здатні засвоювати пентози і гексози і навіть переносити наявність фурфуролу у середовищі. Основна перевага технології - це одержання продукту без залишків вихідної сировини, а отже, більш стабільного і контрольованого складу та поновлення сировинних джерел (рослинної біомаси). Недоліком є необхідність використання агресивних середовищ і високих тисків на стадії гідролізу, значні витрати на його проведення та транспортування рослинної сировини. Гідролізні підприємства мають невеликі потужності і свого часу внесли великий вклад у вирішення проблеми кормового білка. Кормові дріжджі, одержані на гідролізатах рослинної сировини, містять до 43-58 % білка. Крім рослинних, використовуються і гідролізати відходів тваринництва (гноювих стоків від свиней) для вирощування кормових дріжджів. Ця технологія використовувалась у Чехословаччині.

Отримання мікробного білка одноклітинних водоростей

Одноклітинні водорості є одним із суттєвих резервів харчового і кормового білка. На відміну від технології вирощування бактерій і дріжджів культивування мікроводоростей не належить до безперервних процесів, оскільки проходить за рахунок фотосинтезу. Ефективність виробництва біомаси водоростей залежить від умов освітлення, температури та складу живильного середовища, а сам процес потребує великих об'ємів води. В Україні в 50-60-х роках ХХ ст. була зроблена спроба вирощування хлорели у виробничих умовах. Досвід культивування цієї водорості показав, що її доцільно розмножувати з метою отримання кормової добавки для тварин і птиці. Проте значних успіхів у використанні хлорели досягти не вдалось, що пов'язано зі складнощами, які виникали під час концентрування біомаси та її нарощування.

Більш перспективною для одержання білка є синьо-зелена водорість спіруліна (*Spirulina platensis*, *S. maxima*), яка краще розмножується на штучних середовищах порівняно з хлорелою. В умовах збалансованості біогенними макро- і мікроелементами, достатнім рівнем забезпечення теплом і світлом спіруліна може синтезувати органічну речовину з високим вмістом протеїну (87-91 %), в тому числі 60-70 % білка, небілкових азотовмісних сполук 21-27 %, безазотистих екстрактивних речовин 8-10 % та 6-8 % золи. За рівнем збалансованості білків незамінними амінокислотами спіруліна займає проміжне положення між білками рослинного та тваринного походження

Отримання високобілкових кормових препаратів із сировини, що постійно оновлюється

Рослинна сировина є практично необмеженим ресурсом для виробництва білкових речовин. Біотехнологія одержання кормових продуктів на основі мікробіологічного синтезу з використанням як сировини різних целюлозовмісних відходів промислового і сільськогосподарського виробництва

(жом, виноградні вижимки, пивна дробина, корзинки соняшника, костриця льону, коноплі тощо).

Глибинне культивування мікроорганізмів. Продуктом такої ферментації є препарат, який містить залишки вихідної сировини, збагаченої на 17-20 % білком за рахунок біомаси дріжджів і пліснявих грибів. Для одержання збагачених мікробним білком кормових препаратів із важкодоступної для мікроорганізмів рослинної сировини, такої як солома, деревина, тирса й інші промислові і сільськогосподарські відходи (які складаються в основному із целюлози і лігніну) використовують мікроорганізми, які мають целюлозолітичні ферменти. Найчастіше — це міцеліальні гриби і рідше бактерії.

Ферментація у зануреній культурі є на сьогодні основним способом мікробіологічного синтезу. Найпростішими технологічними варіантами *твердофазової ферментації* є компостна купа і поверхневий ріст плісняви.

1. Поверхнева твердофазова ферментація (так званий «тонкий шар»), при якій культура мікроорганізмів росте у шарі субстрату товщиною 3-7 см в камері, де підтримується необхідна температура і вологість повітря. Роль біореакторів виконують великі, площею до декількох квадратних метрів, таці із алюмінію, або культиваційні камери (рис. 2).

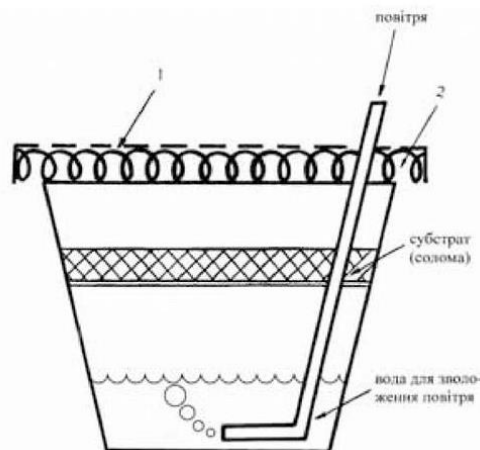


Рис.2 Біореактор (культиваційна камера) для твердофазового поверхневого культивування субстрату (солома) опирається на металеву сітку; відпрацьований газ покидає апарат через пори в кришці (1); скляна вата (2) утворює фільтр, який запобігає попаданню сторонньої мікрофлори до біореактора.

2. Глибинна твердофазова ферментація у шарі, що перемішується (так званий «високий шар»). При ньому культура мікроорганізмів росте по всій масі субстрату, що досягається відповідними методами аерації (вентиляції) маси.

3. Твердофазова ферментація у масі субстрату, що перемішується і аерується. Субстрат може бути гомогенним (напіврідкий гній) або складатись із частинок твердого субстрату, що знаходиться у завислому стані (перехідний варіант між твердофазовим процесом і процесом у рідкій фазі). Зазвичай використовують біореактори з низькошвидкісними змішувачами.

Методами глибинної і твердофазової ферментації одержали продукт, який, залежно від якості сировини, містить 25-50 % протеїну, ферменти целюлолітичної дії, вітаміни, ліпіди. Отже, усі рослинні відходи можна перетворити на багаті білком, жирами, вітамінами кормові препарати мікробного

походження. Для цього використовують декілька принципово різних технологічних рішень - культури мікроорганізмів вирощують глибинним або поверхневим методом.

Мікробний білок у харчуванні людей

Одержаний біотехнологічним шляхом білок одноклітинних може бути використаний для виготовлення продуктів харчування. Мікробний білок є повноцінним білком, який містить всі 9 незамінних амінокислот у співвідношенні, подібному до співвідношення в людському тілі. Виробництво мікробного білка є більш екологічним, ніж виробництво тваринного білка. Мікробні білки можуть бути без генетично модифікованими та не містити антибіотиків або гормонів, що використовуються в традиційному тваринному виробництві. Вони також можуть бути відсутніми алергени, що робить їх безпечними для споживачів з алергіями. Мікробні білки можуть бути виробництво з використанням біотехнологій, що дозволяє ефективно регулювати їхні властивості та якість. Це дає можливість створювати продукти з різними текстурами, смаками та харчовою цінністю. Мікробні білки є однією з перспективних галузей харчової промисловості, і їхнє використання може стати важливим кроком у розвитку сталого та високоякісного харчування.

Мікробний білок може бути використаний для виробництва сумішей для м'ясних аналогів, таких як сосиски, бургери, котлети та інші м'ясоподібні продукти. Вони можуть бути виготовлені з використанням бактерій, грибів або водоростей, що дає можливість створювати смачні та поживні аналоги м'яса для вегетаріанців та веганів. Мікробний білок може бути використаний для виробництва молочних аналогів, таких як соєве молоко, горіхове молоко, овече молоко та інші. Вони містять білок, який виробляється мікроорганізмами, і можуть бути використані для приготування сирів, йогуртів, кефіру та інших молочних продуктів. Мікробний білок може бути включений до складу харчових добавок, таких як протеїнові порошки та білкові коктейлі. Вони використовуються для підтримки спортивної активності, збалансованого харчування або для відновлення після фізичних навантажень.

- **Питання (тестові завдання, задачі, клінічні ситуації) для перевірки базових знань за темою заняття:**

Відповісти на питання

1. Які основні проблеми пов'язані з недостатнім забезпеченням білком для людей і тваринництва та які можливі шляхи розв'язання цих проблем?
2. Які мікроорганізми використовуються для виробництва білка, і які особливості мають дріжджі як продуценти білка?
3. Які переваги та недоліки мають непатогенні бактерії, що використовуються як продуценти білка?
4. Яка відмінність у технологічних схемах для одержання мікробного білка між продуцентами-мікроорганізмами та мікроскопічними грибами?

5. Яка технологічна схема використовується для одержання мікробного білка від мікроорганізмів?
6. Які етапи включає в себе процес одержання мікробного білка з мікроорганізмів?
7. Які штами-продуценти є найбільш ефективними для використання метанолу як субстрату?
8. Які переваги і перспективи глибокого культивування мікроорганізмів та ферментації у зануреній культурі?
9. Яка суть та які типи твердофазової ферментації існують?
10. Які перспективи використання мікробного білка в харчуванні людей і які продукти можуть бути створені за його участю?

3. Формування професійних вмінь, навичок (проведення практичного завдання):

- **зміст завдань (завдання);**

- *Завдання 1.* Порівняльна характеристика застосування дріжджів та бактерій як продуцентів білка.

Тип мікроорганізма	Переваги	Недоліки
1. Дріжджі		
2. Бактерії		

- *Завдання 2.* Порівняльна характеристика застосування пліснявих грибів та мікроводоростей як продуцентів білка.

Тип мікроорганізма	Переваги	Недоліки
1. Плісняві гриби		
2. Мікроводорості		

- *Завдання 3.* Отримання білку різними методами

Питання	Характеристика	Перевага	Недоліки
Отримання мікробного білка на відходах переробки нафти			
Отримання мікробного білка на метанолі та етанолі			
Отримання мікробного білка на гідролізатах рослинних відходів			

Отримання мікробного білка одноклітинних водоростей			
---	--	--	--

- *Завдання 4.* Ознайомитися з методами мікробіологічного синтезу

Метод	Основні особливості	Отриманий продукт
1. Глибинне культивування мікроорганізмів.		
2. Поверхнева твердофазова ферментація ("тонкий шар")		
3. Глибинна твердофазова ферментація у шарі, що перемішується ("високий шар")		
4. Твердофазова ферментація у масі субстрату, що перемішується та аерується		

- рекомендації щодо виконання завдання;

Згідно з ходом практичного заняття провести оформлення індивідуального завдання у своєму робочому зошиті.

- вимоги до результатів роботи, в тому числі до оформлення;

Індивідуальне робоче завдання заповнюється у робочий зошит та здається на перевірку викладачеві.

- матеріали контролю для заключного етапу заняття: задачі, завдання, тести тощо:

1. Що відмінює дріжджі як продуцентів білка від інших мікроорганізмів?

- Швидкий ріст
- Високий вміст сірковмісних амінокислот
- Ріст у різних умовах кислотності
- Малі розміри

2. Яка особливість грибів як продуцентів білка полягає в їхній здатності?

- Швидко рости
- Виробляти вуглеводи
- Синтезувати гідролітичні ферменти
- Проводити фотосинтез

3. Яку якість має білок, отриманий від дріжджів, порівняно з іншими джерелами білка?

- a) Вміст метіоніну
- b) Спосіб культивування
- c) Вміст нуклеїнових кислот
- d) Розмір клітин

4. Для чого можуть бути використані бактерії як продуценти білка?

- a) Виробництво гідролітичних ферментів
- b) Виготовлення декоративних виробів
- c) Очищення води від бруду
- d) Збагачення ґрунту добривами

5. Які особливості грибів як продуцентів білка роблять їх перспективними для виробництва з відходів сільського господарства та харчової промисловості?

- a) Швидкість росту
- b) Здатність утилізувати складні полісахариди
- c) Високий рівень білка
- d) Великі розміри клітин

6. Які недоліки можуть бути властивими продуктам, які містять білок, отриманий від дріжджів?

- a) Високий рівень сірковмісних амінокислот
- b) Вміст нуклеїнових кислот
- c) Швидкість росту
- d) Вміст ароматичних речовин

7. Які основні переваги мікроскопічних грибів як продуцентів білка у порівнянні з іншими мікроорганізмами?

- a) Швидкий ріст
- b) Здатність до синтезу гідролітичних ферментів
- c) Великий розмір клітин
- d) Високий рівень протеїну

8. Які види одноклітинних водоростей є найбільш прийнятними продуцентами білка?

- a) Зелені протококові водорості і спіруліна
- b) Червоні водорості і бурі водорості
- c) Сині водорості і жовті водорості
- d) Великі водорості і малі водорості

9. Яка особливість мікроводоростей щодо біосинтезу білків?

- a) Активний біосинтез білків
- b) Можуть жити без білків
- c) Відсутність біосинтезу білків

d) Низький рівень біосинтезу білків

10. Яка серед міководоростей більш перспективна для одержання білка?

- a) Хлорела
- b) Сценедесмус
- c) Спіруліна
- d) Червоні

11. Який основний етап технології одержання білка з міководоростей?

- a) Очищення біомаси
- b) Ферментація
- c) Вирощування міководоростей
- d) Ферментування мікроорганізмів

12. Які види мікроорганізмів використовуються для отримання мікробного білка на метанолі?

- a) Тільки бактерії
- b) Тільки дріжджі
- c) Як бактерії, так і дріжджі
- d) Тільки гриби

13. Які види мікроорганізмів використовуються для отримання мікробного білка на метанолі?

- a) Тільки бактерії
- b) Тільки дріжджі
- c) Як бактерії, так і дріжджі
- d) Тільки гриби

14. Які організми використовуються для отримання мікробного білка методом глибинної ферментації?

- a) Тільки бактерії
- b) Тільки гриби
- c) Мікроорганізми з целюлозолітичними ферментами
- d) Тільки водорості

15. Яка важлива характеристика мікробного білка для харчування?

- a) Високий вміст антибіотиків
- b) Низький вміст протеїну
- c) Вміст всіх 9 незамінних амінокислот
- d) Високий вміст ліпідів

16. Який спосіб ферментації є основним для отримання мікробного білка?

- a) Глибинна ферментація у культурі, що перемішується
- b) Глибинна ферментація у гомогенному субстраті
- c) Глибинна ферментація у масі субстрату, що перемішується і аерується
- d) Поверхневий ріст плісняви

17. Яка основна перевага синьо-зеленої водорості спіруліни для отримання білка?

- a) Низький вміст протеїну
- b) Висока горючість
- c) Високий вміст протеїну
- d) Швидка культивування

18. Якими головними перевагами має етанол як субстрат для одержання мікробного білка?

- a) Висока горючість і висока токсичність
- b) Мала токсичність і добра розчинність у воді
- c) Висока леткість і висока горючість
- d) Можливість утворення вибухонебезпечних сумішей

19. Яка недолік технології одержання мікробного білка на метанолі?

- a) Висока леткість
- b) Висока токсичність
- c) Потреба в аерації
- d) Низька токсичність

20. Який максимальний вміст сирого протеїну в кормових дріжджах, одержаних на метанолі?

- a) 56-62%
- b) 70-74%
- c) 43-58%
- d) 80-85%

4. Підведення підсумків.

Повідомлення поточних оцінок, зауваження викладача відносно підготовки студентів до практичного заняття, оголошення наступної теми заняття.

5. Список рекомендованої літератури:

Основна:

1. Spada. G. Walsh Directory of Approved Biopharmaceutical Products 1st Edition . – CRC Press, 2019. – 336 p.
2. С. Kokare PHARMACEUTICAL BIOTECHNOLOGY 1st Edition. – NiraliPrakashan, 2017. – 274.
3. Лихач А. В. Промислова біотехнологія / А. В. Лихач. – МНАУ. – 2016. – 116 с.

Додаткова:

1. Determination of Candida albicans proteins concentration by enzyme-linked immunosorbent assay method at subcutaneous introduction in candidiasis therapy / MykolaRybalkin, Natalia Khokhlenkova, Julia Azarenko ,TetianaDiadiun //

PHARMACIA (Bulgaria), 2020, 67 (4), P. 393-396. DOI 10.3897/pharmacia.67.e52568

5. Kaliuzhnaia O.S. Investigation of the use of fluoroplastic filter elements in the production of a promising antibiotic substance Pyocyanin / Kaliuzhnaia O.S., Kaliuzhnyi O.V., Soloviova A.V. Технічний сервіс агропромислового, лісового та транспортного комплексів. № 18, 2020. ISBN 978-1-9993071-4-1

6. Калюжная О.С. Використання фторопластових фільтруючих елементів у біотехнологічному виробництві антибіотичних речовин. Технічний сервіс агропромислового, лісового та транспортного комплексів. № 19, 2020. ISBN 978-1-9993071-4-1

7. Біотехнологічні дослідження при розробці льодяників з пробіотиками / Старущенко У.А., Ярова Л.О., Калюжная О.С., Хохленкова Н.В., Калюжный О.Б. Вісник фармації. № 1 (101), 2021. – С. 38-43. ISSN 2415-8844

8. Стрілець О.П. Paramecium caudatum як тест-об'єкт у біотестуванні / О.П. Стрілець, Л.С. Стрельников. Новітні досягнення біотехнології: Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 15-річчю кафедри біотехнології Національного авіаційного університету (23 вересня 2020 р., Київ). – К.: НАУ, 2020. – С. 53-54.

9. Стрілець О.П. Біотехнологічне тестування за допомогою найпростіших / О.П. Стрілець, Л.С. Стрельников. Science, engineering and technology: global trends, problems and solutions: International scientific and practical conference, September 25-26, 2020, Prague, 2020. P.2. – P. 52-54.

10. Зима Е.П. Перспективність розробки пігментів на основі технологій мікробного синтезу / Зима Е.П., Калюжная О.С. // Topical issues of new medicines development: Матеріали XXVIII Міжнародної науково-практичної конф. молодих учених та студентів присвяченої 150-річчю з дня народження М.О. Валяшка (18-19 березня 2021 р., м. Харків). – Харків: НФаУ, 2021. – С. 226-228.

11. Kushka R.O., Dvinskykh N.V. Bacteriophages – as an essential alternative to antibiotics // Topical issues of new medicines development: матеріали XXVIII Міжнародної науково-практичної конференції молодих учених та студентів присвяченої 150-річчю з дня народження М.О. Валяшка (18-19 березня 2021 р., м. Харків). – Харків: НФаУ, 2021. – С. 212-213.

12. Fesenko L. O., Dvinskykh N.V. Prospect of production biologically of active additives of probiotics // Topical issues of new medicines development: матеріали XXVIII Міжнародної науково-практичної конференції молодих учених та студентів присвяченої 150-річчю з дня народження М.О. Валяшка (18-19 березня 2021 р., м. Харків). – Харків: НФаУ, 2021. – С. 210-211.

13. Половко Н.П. Оцінка біофармацевтичних факторів при розробці та виробництві нових лікарських засобів/Н.П. Половко, Л.І.Вишневіська, О.С.Шпичак // Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології : збірник наукових праць, випуск 2. – Х.: Вид-во НФаУ, 2017. – С. 155-160.

Електронні інформаційні ресурси:

1. Сайт кафедри фармацевтичної хімії та технології ліків ОНМедУ Технологія ліків ОНМедУ (odmu.edu.ua)
2. Бібліотека ОНМедУ (odmu.edu.ua) - Наукова бібліотека ОНМедУ
3. www.moz.gov.ua – офіційний сайт Міністерства охорони здоров'я України
4. Одеський національний медичний університет (onmedu.edu.ua) – офіційний сайт ОНМедУ
5. Державний реєстр лікарських засобів України. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.drlz.com.ua/> – станом на 10.01.2017 р

Практичне заняття № 3

Тема: «Технологія біопрепаратів з фосфоліпідів, отримання, використання» – 2 год.

Мета: ознайомлення із поняттям «фосфоліпід», розгляд критеріїв класифікації фосфоліпідів та вивчення їхньої ролі в структурі біологічних мембран. Дослідження основних аспектів, які вирішує біотехнологія фосфоліпідів, а саме їхня імуногенність, антигенність та адьювантні властивості. Розгляд цілей, за якими використовуються іммобілізовані фосфоліпідиди, а також опис механізмів іммобілізації фосфоліпідів. Розгляд методів виділення та очищення фосфоліпідів і аналітичних методів для контролю їхньої якості.

Основні поняття: біологічні мембрани, бішар, фосфоліпідиди.

Обладнання: методичні рекомендації, підручники.

План

1. Організаційний момент (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація студентів щодо вивчення теми).

2. Контроль опорного рівня знань (письмова робота, фронтальне опитування тощо):

- **вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять** (вимоги до знань, перелік дидактичних одиниць)

Фосфоліпідиди є основним класом мембранних ліпідів. У клітинах і тканинах бактерій, рослин і тварин вони разом з іншими ліпідами й білками беруть участь у формуванні та забезпеченні функцій біологічних мембран.

Фосфоліпіди представляють собою комплекс хімічних речовин, що відносяться до полярних ліпідів. Це складні ефіри деяких спиртів, кислот жирного ряду і фосфорної кислоти. Типова молекула фосфоліпіду складається з гідрофільної полярної «голови», яка має у своєму складі гліцерин або інший багатоатомний спирт, негативно заряджений залишок фосфорної кислоти і групу атомів з позитивним зарядом, а та-кож з двох гідрофобних «хвостів». Довжина «хвостів» коливається у межах 14...24 атомів карбону у ланцюзі. Один з хвостів містить декілька ненасичених зв'язків між атомами карбону, інший не містить. Кожен ненасичений зв'язок обумовлює вигин ланцюга та дуже важливий для зв'язку фосфоліпідів між собою у біологічних структурах. Склад «хвостів» фосфоліпідів залежить від зовнішнього джерела жирних кислот. Фосфатні групи можуть бути змінені шляхом приєднання простих органічних молекул, таких як холін, етаноламін або серин.

Фосфоліпіди класифікують за такими критеріями:

1. За видом спирту: фосфатидилхолін, фосфатидилсерин, фосфатидилинозитол, фосфатидилетаноламін, фосфатидилгліцерофосфат, фосфатидилгліцерол.
2. За видом жирних кислот: насичені, ненасичені, поліненасичені.
3. За кількістю залишків фосфорної кислоти: монофосфоліпіди, дифосфоліпіди, трифосфоліпіди.

Основні властивості фосфоліпідів

1. Гальмування процесів перекисного окиснення ліпідів.
2. Участь у регенерації пошкоджених клітинних мембран, таких як гепатоцити. У більшості випадків ураження печінки застосування фосфоліпідів є патогенетично обґрунтованою терапією, сприятливо впливає на білковий і ліпідний обмін та посилює дезінтоксикаційну функцію печінки.
3. Використання фосфоліпідів як «будівельного» матеріалу для пошкоджених органів і тканин.
4. Модифікація метаболічних процесів.
5. Наявність емульгуючого ефекту. Висока поверхнева активність фосфоліпідів активно використовується при створенні фармацевтичних препаратів, де фосфоліпіди застосовуються як емульгатори, наприклад, біологічно активних емульсій.
6. Антигенна, імуногенна та ад'ювантна активність. Розробка антигенних агентів для діагностики інфекційних захворювань та патологічних процесів. Використання фосфоліпідних структур як ад'ювантів у вакцинах, наприклад, для профілактики грипу та гепатиту.
7. Протипухлинна активність аналогів лізофосфатидилхоліну, наприклад, аналогів лізофосфатидилхоліну.

Отже, важливість фосфоліпідів:

1. Роль у клітинних мембранах: фосфоліпіди є основними складовими клітинних мембран. Вони організовані двома шарами, створюючи ліпідний шар та гідрофільний зовнішній оболонковий шар. Ця структура називається фосфоліпідною бішаровою мембраною. Вона контролює рух речовин в із клітини та навколишнього середовища і забезпечує селективний транспорт речовин.
2. Важливість у біохімії та метаболізмі: фосфоліпіди входять до складу клітинних органел, таких як ядро та мітохондрії, і беруть участь у різних біохімічних процесах, включаючи синтез ДНК та рНК.
3. Емульгація та перенесення жирів: фосфоліпіди грають роль в емульгації жирів, що робить їх розчинними у водному середовищі. Це важливо для перенесення жирів унікальними комплексами, такими як ліпопротеїни, через кров та лімфу.
4. Біотехнологія: фосфоліпіди використовуються у біотехнології для створення ліпосом, які є важливими для доставки ліків і генетичного матеріалу в клітини. Ця технологія також застосовується у косметичній промисловості для розробки засобів догляду за шкірою.
5. Харчова промисловість: фосфоліпіди використовуються в харчовій промисловості як емульгатори, щоб стабілізувати емульсії та поліпшити текстуру харчових продуктів, таких як молоко, маргарин і соуси.

Фосфоліпіди можуть бути антигенами, якщо вони містять в своєму складі певні хімічні групи, такі як карбоксильні або амінні групи. Ці групи можуть вступати в реакцію з антитілами, викликаючи імунну відповідь. Фосфоліпіди можуть бути антигенами також, якщо вони мають певну конфігурацію. Наприклад, фосфоліпіди, які утворюють двошарову структуру, можуть бути антигенами, оскільки ця структура є унікальною для клітинних мембран. Фосфатидилхолін - це найбільш поширений фосфоліпід в клітинних мембранах. Він може бути антигеном, оскільки містить карбоксильну групу.

Фосфоліпіди є ефективними ад'ювантами, оскільки вони стимулюють вироблення антитіл, Т-клітин і подовжують тривалість імунної відповіді. Фосфоліпіди використовуються у вакцинах як **ад'юванти** для поліпшення їхньої ефективності. *Ад'юванти* - це речовини, які додають до вакцин з метою збільшення відповіді імунної системи на антигени, які містяться у вакцині. Роль фосфоліпідів у вакцинах полягає в їхній здатності підсилювати імунну відповідь на антигени. Вони можуть стимулювати деякі компоненти імунної системи, такі як макрофаги і дендритні клітини, що допомагає активувати імунну відповідь на вакцинувальний антиген. Це дозволяє підвищити ефективність вакцини та поліпшити її здатність створювати захист від конкретної хвороби. Застосування фосфоліпідів у вакцинах допомагає знизити дози вакцини, необхідні для

досягнення бажаного імунного відгуку, і може покращити тривалість захисту, що надається вакциною. Ця технологія грає важливу роль у сучасних методах вакцинації і допомагає боротися з інфекційними захворюваннями.

Фосфоліпіди грають важливу роль у цьому процесі завдяки своїм властивостям:

- Підвищення антигенної презентації: фосфоліпіди можуть покращувати презентацію антигенів імунним клітинам. Вони допомагають збільшити приєднання антигену до антитіл і імунних клітин, таких як макрофаги та дендритні клітини. Це активує імунну систему, сприяючи виробленню антитіл та інших компонентів імунної відповіді.
- Збільшення тривалості імунної відповіді: фосфоліпіди можуть підвищувати тривалість імунної відповіді на вакцину. Вони допомагають зберігати антиген в організмі тривалий час, збільшуючи кількість імунних клітин, які мають доступ до антигену.
- Стимуляція імунної відповіді: фосфоліпіди можуть активувати імунну систему, викликаючи вираженішу реакцію на вакцину. Вони сприяють виробленню цитокінів та інших сигнальних молекул, які активують імунні клітини.
- Фосфоліпіди можуть бути використані як ад'юванти у різних типах вакцин, включаючи вакцини проти інфекційних захворювань, раку та інших захворювань. Їхня роль полягає в посиленні імунної відповіді на вакцинувальний антиген і покращенні захисту організму від захворювань.

Приклади того, як фосфоліпіди можуть бути використані для підвищення ефективності вакцин:

- Фосфоліпіди можуть бути використані для створення наночастинок, які можуть доставляти вакцину в клітини. Ці наночастинки можуть допомогти підвищити ефективність вакцини, оскільки вони можуть доставляти вакцину в клітини, які зазвичай не активуються вакциною.
- Фосфоліпіди можуть бути використані для створення вакцин, які можуть викликати більш сильну імунну відповідь. Деякі ад'юванти, які додаються до вакцин, містять фосфоліпіди. Наприклад, монофосфорилований ліпід А (MPL) є одним із фосфоліпідних ад'ювантів, які зараз використовуються у вакцинах. Вони підвищують імунну відповідь та роблять вакцини більш ефективними. Це може бути корисно для вакцин проти захворювань, які викликають слабку імунну відповідь.

Деякі фосфоліпіди можуть бути використані для подовження тривалості імунної відповіді на вакцину. Вони допомагають зберегти «пам'ять» імунної системи та підтримувати високий рівень захисту. Фосфоліпіди використовуються для створення ліпосом, що містять антигени вакцини. Це дозволяє захищати антигени від руйнування та підвищує їхню стабільність.

Ліпосомні вакцини можуть підвищувати імунну відповідь, забезпечуючи кращу поставку антигенів до імунних клітин.

У вакцинах на основі РНК, які використовуються для захисту від вірусів, таких як SARS-CoV-2, фосфоліпіди можуть використовуватися для підвищення стабільності РНК та поставки її до клітин для ініціації імунної відповіді.

Наночастинки для утворення оболонок є важливим компонентом біотехнології та фармацевтики. Фосфоліпіди використовуються для створення цих оболонок навколо наночастинок, таких як лікарські засоби, гени, ферменти тощо. Цей процес дозволяє поліпшити стабільність наночастинок та забезпечити контрольовану та спрямовану доставку активних речовин до місця призначення. Фосфоліпіди створюють оболонку навколо наночастинок, яка захищає їх від дестабілізуючих факторів, таких як окиснення, термічні впливи або вплив водного середовища. Це дозволяє зберегти активність та ефективність наночастинок на протязі тривалого періоду, що важливо для лікарських засобів та інших біотехнологічних додатків. Оболонка з фосфоліпідів може бути налаштована таким чином, щоб контролювати швидкість та механізм доставки активних речовин. Це дозволяє точно направляти лікарські засоби або інші біологічні молекули до конкретних клітин або тканин в організмі, зменшуючи при цьому системний вплив та побічні ефекти. Один з прикладів застосування наночастинок з фосфоліпідною оболонкою - це доставка лікарських засобів до ракових клітин для цільового лікування. Фосфоліпіди забезпечують збереження активності лікарського засобу та його точну доставку до пульсуючих клітин.

Для отримання фосфоліпідів з біологічних джерел зазвичай використовуються наступні джерела:

- Вибір джерела: фосфоліпіди можна отримувати з різних джерел, таких як рослини (найбільше використовуються соя та соняшник), тварини (яйця) або мікроорганізми (дріжджі або бактерії). Вибір джерела залежить від потрібної якості та кількості фосфоліпідів.
- Екстракція: фосфоліпіди виділяються з сировини за допомогою розчинників, таких як хлороформ або метанол. Ця процедура допомагає відокремити фосфоліпіди від інших ліпідів та компонентів сировини.
- Очищення: вилучені фосфоліпіди піддаються процесам очищення, таким як фільтрація та хроматографія, для видалення залишкових забруднень та отримання чистих фосфоліпідів.

Технологія отримання фосфоліпідів з соєвих бобів

Соеві боби є одним з найбільш поширених джерел фосфоліпідів. Вони містять близько 20% фосфоліпідів, які в основному представлені фосфатидилхоліном, фосфатидилетаноламіном і фосфатидилинозитином. Технологія отримання фосфоліпідів з соєвих бобів включає наступні етапи:

1. Гідратація. Соеві боби замочують у воді протягом 12-24 годин для набухання.
2. Екстракція. Соеві боби подрібнюють і екстрагують фосфоліпиди за допомогою етанолу.
3. Очищення. Фосфоліпиди очищають від інших молекул, таких як білки, вуглеводи та нуклеїнові кислоти, за допомогою хроматографії.
4. Ідентифікація і кількісна оцінка. Фосфоліпиди ідентифікують і кількісно оцінюють за допомогою газової хроматографії.

Технологія отримання фосфоліпідів з соєвих бобів має наступні переваги:

- Соеві боби є доступним і недорогим джерелом фосфоліпідів.
- Технологія добре розроблена і ефективна.

Технологія має наступні недоліки: фосфоліпиди з соєвих бобів можуть містити антигени, які можуть викликати алергічні реакції.

Фосфоліпиди з соєвих бобів використовуються в різних областях, таких як: Медицина: виробництво вакцин, лікарських засобів і дієтичних добавок. Косметика: виробництво кремів, лосьйонів і шампунів. Харчова промисловість: виробництво майонезу, маргарину і інших продуктів харчування.

Метод екстракції ліпідів й виділення дифосфатидилгліцерину

Дифосфатидилгліцерин (ДФГ) - це фосфоліпід, який є основним компонентом клітинних мембран. 120 г сирого осаду протопластів, отриманого з сирої біомаси, екстрагували двома сумішами хлороформ-метанол (2:1) по 300 мл протягом 1 години при перемішуванні. Ліпідний екстракт відокремлювали від осаду фільтруванням через скляний фільтр № 2 під вакуумом, а об'єднаний ліпідний екстракт промивали 0,2 об'ємом 0,9% розчину натрію хлориду. Після розділення шарів субстрат відокремлюють і випарюють у вакуумному роторному випарнику при температурі нижче 35°C. Вихід загальної ліпідної фракції становить 900-950 мг. Висушений ліпідний залишок розчиняють у 3 мл хлороформу, наносять на колонку, заповнену 50 г силікагелю, і частково елюють 100 мл хлороформу та суміші хлороформ-метанол (96:4; 92:8; 90:10; 85:15; 80:20; 70:30; 65:35). Основна кількість дифосфатидилгліцерину міститься в третій та четвертій частинах елюату. Вихід хроматографічно чистого ліпиду становить 250-300 мг. Виділення лізолецитину за допомогою фосфоліпази A2 - Пальмітоіл-L- α -лізолецитин отримують з дипальмітоіл-лізолецитину шляхом гідролізу під дією фосфоліпази A2 і очищають осадженням. Дипальмітоіл-лецитин (5 г) розчиняють у 800 мл абсолютного діетилового ефіру при 28-30°C і додають розчин 50 мг зміїної отрути (*Naja naia Crotalus adamanteus*) в 10 мл 0,2 М буферного розчину борної кислоти при рН 7,4. Суміш струшують протягом 10-15 хвилин при вказаній температурі. Суміш досить швидко каламутніє через утворення пластівчастого осаду. Після охолодження суміші пластівчастий осад

відокремлюють центрифугуванням, промивають 200 мл ефіру і розчиняють у мінімальному об'ємі абсолютного етанолу при 40 °С. Розчин розбавляють 300 мл абсолютного ефіру і витримують при мінус 20 °С протягом 1 год, після чого осад відокремлюють центрифугуванням. Осадження повторюють ще двічі на силікагелі під контролем ТШХ. Вихід хроматографічно чистого лізолецитину становить приблизно 3 грами. Слід зазначити, що до 90% лізолецитину осаджується на силікагелі за допомогою цієї методики.

Технологія отримання фосфоліпідів з мікроорганізмів

Мікроорганізм вирощують в промислових масштабах в стерильній середовищі. Найбільш поширеними мікроорганізмами для отримання фосфоліпідів є дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* і бактерії *Escherichia coli*. Обрані мікроорганізми культивуються в біореакторах або інших спеціальних умовах. Для оптимізації росту та біосинтезу фосфоліпідів можуть регулювати параметри, такі як температура, рН, живильне середовище тощо.

Огляд основних етапів технології отримання фосфоліпідів з мікроорганізмів

Крок 1: Вибір мікроорганізмів. Перший етап полягає у виборі відповідних мікроорганізмів для виробництва фосфоліпідів. Зазвичай використовуються бактерії, такі як *Escherichia coli* або гриби, які мають властивості біосинтезу фосфоліпідів.

Крок 2: Культивування мікроорганізмів. Обрані мікроорганізми культивуються в біореакторах або інших спеціальних умовах. Для оптимізації росту та біосинтезу фосфоліпідів можуть регулювати параметри, такі як температура, рН, живильне середовище тощо.

Крок 3: Біосинтез фосфоліпідів. Мікроорганізми синтезують фосфоліпіди в процесі свого життєвого циклу. Фосфоліпіди можуть бути синтезовані з власних резервів мікроорганізмів або за участю додаткових сировинних компонентів.

Крок 4: Збір та очищення фосфоліпідів. Після біосинтезу фосфоліпідів, вони можуть бути зібрані з культури мікроорганізмів. Потім відбувається процес очищення, включаючи фільтрацію та хроматографію, що допомагає виділити чисті фосфоліпіди від інших компонентів.

Крок 5: Аналіз та використання. Отримані фосфоліпіди піддають аналізу для визначення їх чистоти та якості. Потім вони можуть бути використані у біотехнології для розробки різних продуктів та технологій. Фосфоліпіди можуть бути використані як емульгатори, стабілізатори, ліпідні наночастинки та інші компоненти для різних біологічних та медичних застосувань.

Отримання фосфоліпідів з мікроорганізмів є одним із ефективних методів в біотехнології. Це пов'язано з наступними факторами:

- Мікроорганізми є високопродуктивними продуцентами фосфоліпідів. Вони можуть синтезувати фосфоліпіди в великих кількостях, що дозволяє отримувати високоякісні продукти за відносно низькою вартістю.
- Фосфоліпіди, отримані з мікроорганізмів, є більш безпечними, ніж фосфоліпіди, отримані з інших джерел. Вони не містять антигенів або інших потенційно шкідливих речовин.
- Мікроорганізми є легкодоступними і недорогими джерелами фосфоліпідів. Вони можуть бути вирощені в промислових масштабах, що робить їх доступними для широкого кола споживачів.

Виділення сумарних фосфоліпідів дріжджових клітин з використанням методів екстракції та осадження

Мікробні ліпіди виділяли з дріжджової біомаси. Потім дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* подрібнювали на невеликі шматочки (1,5 x 2 см) та інкубували при 40°C протягом 7 годин у присутності ксилолу. Отримані розчинені дріжджі змішували з ацетоном, охолодженим до 0-2°C, охолоджували до мінус 20°C і перемішували суміш при мінус 10°C протягом 1 години. Процес екстракції проводили в реакторі з перемішуванням. Дріжджові клітини відокремлювали фільтруванням через нутч-фільтр або центрифугуванням на проточній центрифuzі. До осаду додавали свіжу порцію ацетону, охолодженого до мінус 20°C, і суміш перемішували при мінус 10°C протягом 1 години. Дріжджові клітини відокремлювали фільтруванням. Необхідність подальшої обробки ацетоном і температурний режим обробки визначали за допомогою ТШХ (тонкошарової хроматографії) в системі для нейтральних ліпідів і фосфоліпідів. На цьому етапі видаляються нейтральні ліпіди (наприклад, холестерин, жирні кислоти, гліцериди). Метод заснований на розчиненні нейтральних ліпідів в ацетоні і низькій розчинності фосфоліпідів в охолодженому ацетоні. Співвідношення розчинників і час екстракції визначають експериментально. Після екстракції в реакторі розчин ліпідів відокремлюють фільтрацією. При використанні системи ТШХ для фосфоліпідів, наприклад, хлороформ: метанол: вода (65:25:4), визначають необхідність подальшої обробки сумішами розчинників і температурний режим процесу. Об'єднують отримані фосфоліпідні екстракти, видаляють осадки клітин. До фосфоліпідної суміші додають водний розчин солі для видалення водорозчинних баластних домішок. Кількість водного розчину визначають експериментально і фазово розділяють на етанол і хлороформ. Нижній хлороформний шар відокремлюють, додають Na₂SO₄ для зневоднення і концентрують суміш у вакуумі при 30-35°C в роторному випаровувачі. Отриману ліпідну олію, що складається із загальних фосфоліпідів дріжджів, зберігають при температурі нижче -10 °C. Зі 100 кг

дріжджів можна отримати до 7 кг фосфоліпідної олії. Для зниження собівартості кінцевого продукту необхідно регенерувати водно-метанольний розчин і хлороформ. Фосфоліпіди з *Saccharomyces cerevisiae* широко використовуються в косметичній промисловості та фармакології. Наприклад, відомо, що фосфоліпіди, виділені з дріжджових клітин, мають ряд фармакологічних ефектів, включаючи цитопротекторну, антиоксидантну та антигіпоксичну дію. Залежно від умов культивування, до складу загальних фосфоліпідів входять такі фосфоліпіди фосфатидилхолін, фосфатидилетаноламін, фосфатидилсерин і менша кількість фосфатидної кислоти, фосфатидилінозитулу, дифосфатидилгліцеролу і фосфатидилгліцеролу.

У фармацевтичному виробництві до ліпідних речовин висуваються особливі вимоги. Розчинники, що використовуються в процесі виробництва (наприклад, етанол, метанол, хлороформ, ефір), повинні бути перевірені на наявність домішок, в тому числі токсичних. Вміст ендотоксинів і важких металів у ліпідах та забруднення мікроорганізмами слід перевіряти відповідно до вимог до фармацевтичних субстанцій. Для зменшення забруднення ліпідних субстанцій ліпіди можна стерильно відфільтрувати розчинами органічних розчинників, таких як етанол або метанол. Крім того, одним із способів зменшення забруднення ліпідних субстанцій є обробка їх органічним розчинником, наприклад, хлороформом.

Переваги отримання фосфоліпідів з мікроорганізмів:

Висока продуктивність. Мікроорганізми, такі як бактерії та гриби, можуть бути високопродуктивними джерелами фосфоліпідів. Завдяки оптимізації умов культивування та генетичним модифікаціям, можна досягти значних виходів фосфоліпідів.

Безпека. Виробництво фосфоліпідів з мікроорганізмів може бути більш безпечним, оскільки воно не вимагає використання великої кількості хімічних реагентів або генетично модифікованих організмів. Це сприяє уникненню ризиків для навколишнього середовища та здоров'я.

✓ Доступність. Мікроорганізми можуть рости та біосинтезувати фосфоліпіди на різних середовищах, включаючи відходи харчової та сільськогосподарської промисловості. Це робить процес виробництва більш доступним та сталою джерелом сировини.

✓ Можливість генетичного інженерії. З використанням мікроорганізмів, можна впливати на генетичний склад та метаболізм для підвищення продуктивності та якості фосфоліпідів.

Недоліки отримання фосфоліпідів з мікроорганізмів:

✓ Необхідність використання спеціального обладнання. Процес отримання фосфоліпідів з мікроорганізмів може вимагати спеціалізованого обладнання для

культивування та виділення продукту. Це може підвищувати витрати на обладнання та ускладнювати технологічний процес.

✓ **Складність процесу.** Культивування та виділення фосфоліпідів з мікроорганізмів може бути складним технологічним процесом, який вимагає контролю над умовами середовища, включаючи температуру, рН, кисневий режим тощо. Це може збільшувати складність та витрати на проведення процесу.

✓ **Час.** Процес отримання фосфоліпідів може бути часо- та енерговитратним. Мікроорганізми потребують певного часу для росту та біосинтезу продукту, що може затягувати виробництво.

Важливим з пріоритетних напрямків використання фосфоліпідів у фармації є створення лікарських засобів, інкорпорованих у наночастинки (зокрема ліпосоми). Це створення лікарських засобів, інкорпорованих у наночастинки (зокрема ліпосоми). Використання ліпосом як носіїв лікарських речовин дозволяє підвищити селективність їх дії та знизити токсичність. Застосування ліпосом є актуальним для лікування злоякісних пухлин та внутрішньоклітинних інфекцій, а оптимізація біорозподілу сильнодіючих лікарських засобів є вирішальним фактором підвищення їх ефективності та покращення якості життя пацієнтів. Доведено, що ефективність ліпосом визначається їх здатністю оптимізувати фармакокінетику та біорозподіл лікарських засобів. Ліпосомальні препарати є перспективними завдяки їх здатності забезпечувати контрольоване введення лікарських засобів. Важливою перевагою використання ліпосом є гнучкість технології їх створення, що дозволяє змінювати властивості лікарського носія відповідно до природи та регіону патологічного стану. Наразі на світовому фармацевтичному ринку представлено 30 ліпосомальних препаратів, п'ять з яких продаються в Україні.

«Фосфоглів» - це ліпосома, виготовлена з соєвого фосфатидилхоліну з гліцериновою кислотою. Це ефективний гепатопротекторний препарат.

Вважається, що якщо ліпосомальні препарати прикріплюються до клітин і спрямовуються на них, їхня ефективність значно підвищується

«Молекулярні мішені» - молекули, які специфічно зв'язуються з клітинами-мішенями. Наприклад, ліпосоми, навантажені доксорубіцином, були сконструйовані проти градієнта сульфату амонію, а на їх поверхні були ланцюги PEG2000 і антитіла проти глікопротеїнових кислих білків. Нейроспецифічні антитіла (наприклад, антитіла проти основного білка мієліну, глікопротеїнів, нейроспецифічної енолази тощо) доцільно використовувати як вектори для цільової доставки ліків до вогнищ порушення гематоенцефалічного бар'єру. З ембріональних астроцитів мозку щурів готували пегільовані імуноліпосоми, які зв'язувалися з антигеном та PEG ілірованих імуноліпосом. В даний час в якості ліпосом використовують інші антрацикліни, антибіотики, інтерлейкіни,

фактори росту, генно-інженерні препарати (плазмід, ДНК-вакцини, антисмислові нуклеотиди), що зв'язують антиген, антитіла,

Наразі до ліпосом належать термочутливі, стерильно стабілізовані для збільшення часу циркуляції в крові, спрямовані на конкретні вогнища патології за допомогою «молекулярної адресації», а також жорсткі та нетекучі ліпосоми. Новітні напрямки в розробці ліпосомальних лікарських засобів сьогодні є загальноновизнаними. Ми пропонуємо ліпосоми для цільової доставки генетичного матеріалу (основа генної терапії). Напрямок доставки забезпечується «молекулярною адресою», яка зв'язується з поверхнею ліпосом за допомогою гнучких поліетиленгліколевих ланцюгів, довжина яких більша, ніж у аналогічних «порожніх» ланцюгів, які також зв'язуються з ліпосомами, щоб збільшити час циркуляції. Молекули злитого білка вбудовуються в мембрану для полегшення проникнення терапевтичного гена в цитоплазму; ДНК забезпечується позитивно зарядженим фосфоліпідом або полімером для стиснення і компенсації негативного заряду. Неважко помітити, що наведена вище конструкція нагадує схему вірусної оболонки, тобто ефективний механізм введення чужорідної ДНК в клітину, і слід зазначити, що в даний час ведуться дослідження по завантаженню лікарських речовин у вірусну оболонку. Однак, необхідно розуміти і недоліки ліпосомного транспорту.

Обмеженість використання:

- Висока ціна;
- Хімічна нестабільність фосфоліпідів;
- Агрегаційна нестабільність ліпосомальних дисперсій;
- Невелика ефективність гідрофобних субстанцій.

Завдяки своїм властивостям фосфоліпіди є важливим компонентом фармацевтичних препаратів, особливо тих, що виробляються за допомогою біотехнології. Сьогодні лікарські засоби на основі фосфоліпідів займають важливе місце у фармацевтичній промисловості. Досить сказати, що до них відносяться деякі дуже ефективні в клінічному застосуванні препарати. Понад 40 ліпосомальних препаратів, що містять цитостимулятори, антибіотики, антиоксиданти, гормони та інші фармакологічно активні сполуки (наприклад, США, Німеччина, Україна, Швейцарія та ін.). Група есенціальних фосфоліпідів представлена ліпідами, виділеними з насіння сої - гепатопротекторами (Німеччина, Франція); оригінальним фармацевтичним препаратом «**Фосфоглів**» - гепатопротектор, засіб для лікування шкірних захворювань (псоріаз, нейродерміт, екзема), що містить фосфатидилхолін рослинного походження і тринатрієву сіль гліциризинової кислоти ((Німеччина); «**Ліпосомфорте**» (Італія), що містить фосфоліпіди, виділені з базальних гангліїв (гіпоталамуса) головного мозку новонароджених свиней - лікування метаболічних порушень, спричинених

нейроендокринними розладами головного мозку. «Фосфосермеморі» - фосфатидилсерин і фосфатидилхолін, отримані шляхом ферментації соєвих бобів соком капусти - відновлює і покращує активність нейронів, покращує пам'ять, відновлює знижені інтелектуальні здібності, застосовується для лікування хвороби Паркінсона і хвороби Альцгеймера, а також для лікування депресії, знімає депресивні стани (Hankintatukku Oy, Фінляндія). Ці препарати доступні в різних лікарських формах, включаючи внутрішньовенні, внутрішньом'язові, інгаляційні, таблетки, капсули, гелі та порошкові препарати для перорального застосування. Нові препарати, що містять фосфоліпиди як фармакологічно активні речовини, щороку виводяться на світовий фармацевтичний ринок з використанням новітніх біотехнологій.

- **Питання (тестові завдання, задачі, клінічні ситуації) для перевірки базових знань за темою заняття:**

Відповісти на питання:

1. Що таке фосфоліпиди і який вони відіграють роль у клітинах і біологічних мембранах?
2. Класифікація фосфоліпідів. Які основні властивості фосфоліпідів і як вони застосовуються у різних галузях?
3. Які практичні застосування фосфоліпідів у фармації та косметичній промисловості? Які можливості існують для використання фосфоліпідів у діагностиці та вакцинації?
4. Що таке ад'юванти в контексті вакцин? Які ролі виконують фосфоліпиди як ад'юванти у вакцинах, і як вони збільшують ефективність вакцинації?
5. Які можливості застосування фосфоліпідів у створенні вакцин для різних хвороб? Яким чином фосфоліпиди допомагають зберегти «пам'ять» імунної системи та підвищити стабільність вакцини?
6. Для яких цілей застосовуються наночастинки з фосфоліпідною оболонкою, і як це може бути корисним для лікування ракових клітин?
7. Охарактеризуйте технологію отримання фосфоліпідів з соєвих бобів. Назвіть основні етапи, переваги та недоліки та визначте їх використання.
8. Назвіть основні етапи технології отримання фосфоліпідів з мікроорганізмів, охарактеризуйте переваги та недоліки використання мікроорганізмів для отримання фосфоліпідів.
9. Що таке дифосфатидилгліцерін? Охарактеризуйте технологію виділення дифосфотидилгліцерину.
10. Як відбувається процес екстракції фосфоліпідів з дріжджових клітин, із використанням яких розчинників? Яким чином відбувається осадження сумарних фосфоліпідів після їхньої екстракції з дріжджових клітин?

11. Які сучасні лікарські препарати на основі ліпосом доступні на фармацевтичному ринку? Які можливі недоліки та обмеження пов'язані з використанням ліпосом у фармації та медицині?

12. Які фармакологічні властивості фосфоліпідів сприяють покращенню стану пацієнтів при певних захворюваннях? Які фармацевтичні препарати на основі фосфоліпідів мають клінічну ефективність і в яких країнах вони доступні?

3. Формування професійних вмінь, навичок (проведення практичного завдання):

- **зміст завдань (завдання);**

Завдання 1. Загальна характеристика фосфоліпідів: структура, класифікація, властивості.

Характеристика	Опис
1. Хімічна структура	
2. Класифікація	
3. Основні властивості	
4. Важливість	

Завдання 2. Характеристика властивостей фосфоліпідів у вакцинах

Характеристика	Опис
Підвищення антигенної презентації	
Збільшення тривалості імунної відповіді	
Стимуляція імунної відповіді	
Використання фосфоліпідів для створення наночастинок	
Використання фосфоліпідів у вакцинах	

Завдання 3. Технологія отримання фосфоліпідів з соєвих бобів

Етап	Опис	Переваги	Недоліки
-------------	-------------	-----------------	-----------------

Гідrataція			
Екскракція			
Очищення			
Ідентифікація і кількісна оцінка			

Завдання 4. Відповісти на питання

Характеристика	Опис
1. Які переваги використання ліпосомальних препаратів?	
2. Які недоліки використання ліпосомальних препаратів?	
3. Які перспективи використання фосфоліпідів у фармації?	

- рекомендації щодо виконання завдання;

Згідно з ходом практичного заняття провести оформлення індивідуального завдання у своєму робочому зошиті.

- вимоги до результатів роботи, в тому числі до оформлення;

Індивідуальне робоче завдання заповнюється у робочий зошит та здається на перевірку викладачеві.

- матеріали контролю для заключного етапу заняття: задачі, завдання, тести тощо:

1. Який критерій класифікації фосфоліпідів визначається видом жирних кислот, які входять до їхнього складу?

- Кількість залишків фосфорної кислоти
- Тип спирту
- Вміст гідрофобних «хвостів»
- Наявність ненасичених зв'язків у жирних кислотах
- Маса молекули

2. Яку функцію виконує гідрофобний «хвіст» фосфоліпідів?

- Гальмування процесів перекисного окиснення ліпідів
- Емульгація жирів

- c) Структурна функція у мембранах
 - d) Регулювання метаболічних процесів
 - e) Антигенна активність
3. Як фосфоліпіди можуть бути антигенами?
- a) За наявності амінокислотних груп
 - b) За типом спирту в молекулі
 - c) За розміром молекули
 - d) За конфігурацією молекули
 - e) За кількістю залишків фосфорної кислоти
4. Яку роль відіграють фосфоліпіди в створенні наночастинок для доставки вакцини в клітини?
- a) Розчиняють наночастинки
 - b) Зменшують стабільність наночастинок
 - c) Покращують емульгацію жирів
 - d) Допомагають доставити вакцину в клітини
 - e) Не впливають на доставку вакцини
5. Як фосфоліпіди впливають на тривалість імунної відповіді на вакцину?
- a) Сповільнюють імунну відповідь
 - b) Сприяють розпаду вакцини
 - c) Підвищують кількість доз вакцини
 - d) Підвищують тривалість імунної відповіді на вакцину
 - e) Мають незначний вплив на вакцинацію
6. Яка перевага технології отримання фосфоліпідів зі соєвих?
- a) Високі витрати
 - b) Важкий процес очищення
 - c) Велика кількість антигенів
 - d) Доступність і низька вартість сировини
7. Яка суміш використовується для екстракції ліпідів з мікроорганізмів
- a) Суміш хлороформ-метанол (1:1)
 - b) Суміш води та етанолу
 - c) Суміш кислоти та лугу
 - d) Суміш ефіру та метанолу
 - e) Суміш солі та цукру
9. Для чого видаляють нейтральні ліпіди під час отримання мікробних ліпідів?
- a) Для зниження собівартості
 - b) Для зберігання ліпідів
 - c) Для отримання нейтральних ліпідів
 - d) Для підвищення водорозчинних баластних домішок
 - e) Для фармацевтичного використання

10. Яке перевага отримання фосфоліпідів з мікроорганізмів порівняно з іншими джерелами фосфоліпідів?

- a) Вища вартість
- b) Містить антигени
- c) Висока токсичність
- d) Високий ризик алергічних реакцій
- e) Більш доступні та безпечні джерела

11. Які мікроорганізми найчастіше використовуються для отримання фосфоліпідів?

- a) Дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*
- b) Культивовані клітини людини
- c) Рослини, такі як соняшник
- d) Рибні організми
- e) Штам бактерій *E. Coli*

12. Який етап технології включає в себе регулювання параметрів, таких як температура та рН?

- a) Вибір мікроорганізмів
- b) Культивування мікроорганізмів
- c) Біосинтез фосфоліпідів
- d) Збір та очищення фосфоліпідів
- e) Аналіз та використання

13. Яку температуру використовують під час інкубації дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* для виділення мікробних ліпідів?

- a) 4°C
- b) 20°C
- c) 40°C
- d) 60°C
- e) 80°C

14. Який з перерахованих ефектів ліпосом у фармації дозволяє знизити токсичність лікарських засобів та підвищити їх селективність?

- a) Збільшення кількості реагентів у препаратах
- b) Зменшення гнучкості технології створення ліпосом
- c) Здатність ліпосом оптимізувати фармакокінетику та біорозподіл лікарських засобів
- d) Здатність ліпосом контролювати температуру середовища
- e) Збільшення діаметру ліпосом

15. Який лікарський засіб виготовлено зі «соевого фосфатидилхоліну з гліцериновою кислотою» та використовується як гепатопротектор?

- a) Ліпосома «Фосфоглів»

b) Антибіотик «Амоксицилін»

c) Вітамін С

d) Барбітурати e) Ібупрофен

16. Що зазвичай забезпечує контрольоване введення лікарських засобів у ліпосомальних препаратах?

a) Збільшення розміру ліпосом

b) Вміст води в препараті

c) Молекулярна адресація та гнучкі поліетиленгліколеві ланцюги

d) Наявність антиоксидантів

e) Високий рівень токсичності

17. Який напрямок в розробці ліпосомальних лікарських засобів актуальний для забезпечення цільової доставки генетичного матеріалу?

a) Збільшення діаметру ліпосом

b) Використання жорстких ліпосом

c) Зменшення часу циркуляції в крові

d) «Молекулярна адресація» та «молекулярні мішені» e) Збільшення гнучкості технології створення ліпосом

18. Яка з названих обмежень використання фосфоліпідів у фармації вказує на хімічну властивість цих сполук?

a) Висока ціна

b) Хімічна нестабільність фосфоліпідів

c) Агрегаційна нестабільність ліпосомальних дисперсій

d) Невелика ефективність гідрофобних субстанцій

e) Здатність ліпосом оптимізувати фармакокінетику та біорозподіл

19. Для чого використовуються фосфоліпіди в препараті «Фосфосермеморі»?

a) Лікування хвороби Паркінсона

b) Знімання депресивних станів

c) Покращення пам'яті

d) Відновлення знижених інтелектуальних здібностей

e) Лікування гіпоталамічних розладів

20. Яка перевага ліпосом в порівнянні з іншими фармакологічними формами є важливою для застосування фосфоліпідів у фармації?

a) Зменшення ціни

b) Великий розмір

c) Низька ефективність гідрофобних субстанцій

d) Можливість використання на відкритому повітрі

e) Здатність забезпечувати контрольоване введення лікарських засобів

4. Підведення підсумків.

Повідомлення поточних оцінок, зауваження викладача відносно підготовки студентів до практичного заняття, оголошення наступної теми заняття.

5. Список рекомендованої літератури:

Основна:

1. Spada. G. Walsh Directory of Approved Biopharmaceutical Products 1st Edition . – CRC Press, 2019. – 336 p.

2. С. Kokare PHARMACEUTICAL BIOTECHNOLOGY 1st Edition. – NiraliPrakashan, 2017. – 274.

3. Лихач А. В. Промислова біотехнологія / А. В. Лихач. – МНАУ. – 2016. – 116 с.

Додаткова:

1. Determination of *Candida albicans* proteins concentration by enzyme-linked immunosorbent assay method at subcutaneous introduction in candidiasis therapy / MykolaRybalkin, Natalia Khokhlenkova, Julia Azarenko ,TetianaDiadiun // PHARMACIA (Bulgaria), 2020, 67 (4), P. 393-396. DOI 10.3897/pharmacia.67.e52568

5. Kaliuzhnaia O.S. Investigation of the use of fluoroplastic filter elements in the production of a promising antibiotic substance Pyocyanin / Kaliuzhnaia O.S., Kaliuzhnyi O.B., Soloviova A.V. Технічний сервіс агропромислового, лісового та атранспортного комплексів. № 18, 2020. ISBN 978-1-9993071-4-1

6. КалюжнаяО.С. Використання фторопластових фільтруючих елементів у біотехнологічному виробництві антибіотичних речовин. Технічний сервіс агропромислового, лісового та транспортного комплексів. № 19, 2020. ISBN 978-1-9993071-4-1

7. Біотехнологічні дослідження при розробці льодяників з пробіотиками/ Старущенко У.А., Ярова Л.О., Калюжная О.С., Хохленкова Н.В., Калюжный О.Б. Вісникфармації. № 1 (101), 2021. –С. 38-43. ISSN 2415-8844

8. Стрілець О.П. *Paramecium caudatum* як тест-об'єкт у біотестуванні / О.П. Стрілець, Л.С. Стрельников. Новітні досягненнябіотехнології: Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 15-річчю кафедри біотехнології Національного авіаційного університету (23 вересня 2020 р., Київ). – К.:НАУ, 2020. – – С.53-54.

9. Стрілець О.П. Біотехнологічне тестування за допомогою найпростіших / О.П.Стрілець, Л.С. Стрельников. Science, engineering and technology: globaltrends, problems and solutions: International scientific and practical conference, September 25-26, 2020, Prague, 2020. P.2. – P. 52-54.

10. Зима Е.П. Перспективність розробки пігментів на основі технологій мікробного синтезу / ЗимаЕ.П., КалюжнаяО.С. // Topical issues of new medicines development: Матеріали XXVIII Міжнародної науково-практичної конф.

молодих учених та студентів присвяченої 150-річчю з дня народження М.О.Валяшка (18-19 березня 2021 р., м. Харків). – Харків: НФаУ, 2021. – С. 226-228.

11. Kushka R.O., Dvinskykh N.V. Bacteriophages – as an essential alternative to antibiotics // Topical issues of new medicines development: матеріали ХХVІІІ Міжнародної науково-практичної конференції молодих учених та студентів присвяченої 150-річчю з дня народження М.О. Валяшка (18-19 березня 2021 р., м. Харків). – Харків: НФаУ, 2021. – С. 212-213.

12. Fesenko L. O., Dvinskykh N.V. Prospect of production biologically of active additives of probiotics // Topical issues of new medicines development: матеріали ХХVІІІ Міжнародної науково-практичної конференції молодих учених та студентів присвяченої 150-річчю з дня народження М.О. Валяшка (18-19 березня 2021 р., м. Харків). – Харків: НФаУ, 2021. – С. 210-211.

13. Половко Н.П. Оцінка біофармацевтичних факторів при розробці та виробництві нових лікарських засобів/Н.П. Половко, Л.І.Вишневська, О.С.Шпичак // Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології : збірник наукових праць, випуск 2. – Х.: Вид-во НФаУ, 2017. – С. 155-160.

Електронні інформаційні ресурси:

1. Сайт кафедри фармацевтичної хімії та технології ліків ОНМедУ Технологія ліків ОНМедУ (odmu.edu.ua)

2. Бібліотека ОНМедУ (odmu.edu.ua) - Наукова бібліотека ОНМедУ

3. www.moz.gov.ua – офіційний сайт Міністерства охорони здоров'я України

4. Одеський національний медичний університет (onmedu.edu.ua) – офіційний сайт ОНМедУ

5. Державний реєстр лікарських засобів України. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.drlz.com.ua/> – станом на 10.01.2017 р