

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ФАКУЛЬТЕТ ЕКОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ, ІНЖЕНЕРІЇ ТА ТЕХНОЛОГІЙ
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

ДОПУСТИТИ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач випускної кафедри

_____ М.М. Барановський

«__»_____2021 р.

ДИПЛОМНА РОБОТ

(ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА)

ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ «БАКАЛАВР»
СПЕЦІАЛЬНІСТЬ 162 «БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА БІОІНЖЕНЕРІЯ»
ОСВІТНЬО-ПРОФЕСІЙНА ПРОГРАМА «ФАРМАЦЕВТИЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ»

Тема: «Порівняльний аналіз технологій отримання спіруліни (*Spirulina*)»

Виконавець: студентка ФБ 402 групи

Руснак О. Ю.

Керівник: д.б.н., професор

Гаркава К. Г.

Нормоконтролер:

Дражнікова А.В.

КИЇВ 2021

НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет екологічної безпеки, інженерії та технологій

Кафедра біотехнології

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

ОПП« Фармацевтична біотехнологія»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач випускної кафедри

_____ М.М.Барановський

«__»_____ 2021 р.

ЗАВДАННЯ

на виконання дипломної роботи

Руснак Ольги Юріївни

1. Тема дипломної роботи: «Порівняльний аналіз технологій виробництва спіруліни (*Spirulina*) » затверджена наказом ректора від «11» травня 2021 р. № 715/ст.

2. Термін виконання роботи: з 11 травня по 16 червня 2021 року

3. Зміст пояснювальної записки: ВСТУП; ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД; МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ; ОТРИМАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН СПІРУЛІНИ *SPIRULINA PLATENSIS*; ВИСНОВКИ; СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.

4. Перелік обов'язкового графічного (ілюстративного матеріалу): 3 таблиці, 4 рисунка.

5. Календарний план-графік

№	Завдання	Термін виконання	Відмітка про виконання
1	Вибір теми дипломної роботи	11.05.2021	
2	Огляд та збір інформації за темою дипломної роботи: «Порівняльний аналіз технологій виробництва спіруліни (<i>Spirulina</i>)»	12.05.2021	
3	Написання першого розділу дипломної роботи	14.05.2021	
4	Написання другого розділу дипломної роботи	17.05.2021	
5	Написання третього розділу дипломної роботи	22.05.2021	
6	Написання висновків	26.05.2021	
7	Підготовка презентації	28.05.2021	
8	Огляд дипломної роботи дипломним керівником	29.05.2021	
9	Попередній захист дипломної роботи	01.06.2021	
10	Захист дипломної роботи	16.06.2021	

б. Дата видачі завдання: « 11 » травня 2021 року

Керівник дипломної роботи _____

Гаркава К.Г.

(підпис керівника)

Завдання прийняв до виконання _____

Руснак О. Ю.

(підпис випускника)

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка до дипломної роботи «Порівняльний аналіз технологій виробництва спіруліни (*Spirulina*)»: 43 сторінки, 4 рисунка, 3 таблиці, 58 використаних літературних джерел.

Об'єкт дослідження : визначення методів виробництва спіруліни *Spirulina platensis*.

Мета дипломної роботи: виконати порівняльний аналіз виробництва спіруліни *Spirulina platensis*.

Предмет дослідження : спіруліна *Spirulina platensis*.

Методи дослідження : аналітичні, теоретичні.

Конструктивні, технологічні та інші характеристики та показники : Спіруліна - унікальне джерело амінокислот і мінералів також багата на вітаміни. Отримувати спіруліну можна двома методами: вирощування в теблицях у відкритих басейнах та культивувати у фотореакторах закритого типу. Відомо, що найкраще застосовувати спіруліну у вигляді екстрактів.

Отримані результати та їх новизна : результати роботи свідчать про популярність спіруліни у двадцять першому столітті.

Рекомендації щодо використання результатів : результати дипломної роботи можуть бути використанні під час проведення наукових досліджень та в практиці фахівців – біотехнологів, біологів, фармацевтів.

Робота може бути використана у фармацевтичній, біотехнологічній галузях та медицині.

СПІРУЛІНА, БІОРЕАКТОР, ЗДОРОВ'Я, МОРФОЛОГІЯ, БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ.

ЗМІСТ

Вступ.....	6
Розділ 1. Огляд літературних джерел.....	8
1.1. Морфологічні особливості спіруліни <i>Spirulina platensis</i>	8
1.1.1. Структура клітинної стінки спіруліни <i>Spirulina platensis</i>	8
1.1.2. Структура клітини спіруліни платенсіс.....	9
1.1.3. Життєвий цикл спіруліни <i>Spirulina platensis</i>	9
1.2. Хімічний склад спіруліни <i>Spirulina platensis</i>	10
1.2.1. Білки спіруліни <i>Spirulina platensis</i>	12
1.2.2. Вміст вітамінів у спіруліні <i>Spirulina platensis</i>	16
1.3. Фармакологічна дія спіруліни <i>Spirulina platensis</i>	17
1.4. Висновки до розділу.....	18
Розділ 2. Матеріали та методи дослідження спіруліни <i>Spirulina platensis</i>	19
2.1. Отримання спіруліни <i>Spirulina platensis</i> у відкритих басейнах.....	19
2.2. Отримання спіруліни <i>Spirulina platensis</i> у закритих фотореакторах.....	22
2.3. Характеристика готового продукту.....	24
2.4. Контроль готового продукту.....	26
2.5. Висновки до розділу.....	27
Розділ 3. Отримання біологічно активних речовин спіруліни <i>Spirulina platensis</i>	28
3.1. Отримання білка для косметичного призначення з мікрководорості <i>Spirulina platensis</i>	28
3.2. Методи отримання каротиноїдів із спіруліни <i>Spirulina platensis</i>	31
3.3. Способи екстракції біологічно активних речовин спіруліни <i>Spirulina platensis</i>	33
Висновки.....	38
Список використаних бібліографічних посилань використаних джерел.....	39

ВСТУП

Актуальність даної теми. Спіруліна використовуються в якості біологічно-активної добавки до їжі. Спіруліна - синьо-зелена водорість, що складається з 71% рослинного білка, який легко засвоюється організмом і містить 18 з 22 амінокислот (включаючи 8 незамінних амінокислот, які не синтезуються організмом людини), нуклеїнові кислоти РНК, ДНК і ферменти, що покращують обмін речовин, 20% мінералів, вітамін а, вітаміни групи В, Е і біотин, а також незамінні жирні кислоти, вуглеводи і харчові волокна, які виводять з кишечника токсичні речовини, надлишок жирів і продукти розпаду речовин. Біологічно-активна добавка Спіруліна - джерело хлорофілу, який сприяє очищенню крові і насичення тканин киснем, а також усуває неприємний запах з рота. Призначення: таблетки Спіруліна - унікальне джерело амінокислот і мінералів.

Повноцінне збалансоване харчування - основа нормальної життєдіяльності людини, запорука його здоров'я і довголіття. На жаль, в нашій країні, через низьку матеріальної забезпеченості більша частина населення не в змозі забезпечити собі адекватне харчування. За останні роки в нашій країні, а також погіршення екологічної обстановки відзначено зменшення споживання м'ясо-молочних і рибних продуктів, що є природним джерелом білків, жирів, вуглеводів та інших необхідних поживних речовин. При неадекватному харчуванні знижується імунітет і стійкість до впливу несприятливих факторів навколишнього середовища, порушується обмін речовин в організмі, що в підсумку призводить до розвитку різних захворювань. Заповнити дефіцит основних поживних речовин можна за допомогою високоякісних біологічно активних добавок до харчування, що реалізуються за доступною ціною. організму в різні періоди життя.

З давніх-давен люди вживали *Spirulina platensis* в їжу. Однак «тріумф» цієї рослини настав близько 15 років тому після проведення численних досліджень, присвячених вивченню впливу *Spirulina platensis* на організм людини і тварин. Отримані результати дозволили вченим говорити про те, що *Spirulina platensis* - це

«їжа двадцять першого століття». Рослину стали вирощувати у відкритих і закритих штучних водоймах (фермах) в Америці, Європі та Азії. В даний час його вживають в їжу більше ніж в 40 країнах світу.

Мета дипломної роботи: виконати порівняльний аналіз виробництва спіруліни *Spirulina platensis*.

Завдання дипломної роботи:

1. Здійснити огляд літератури;
2. Визначити методи виробництва спіруліни *Spirulina platensis*.
3. Визначити методи отримання біологічно активних речовин спіруліни

Spirulina platensis.

Об'єкт дослідження : визначення методів виробництва спіруліни *Spirulina platensis*.

Предмет дослідження : спіруліна *Spirulina platensis*.

Методи дослідження : аналітичні, теоретичні.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1.1. Морфологічні особливості спіруліни *Spirulina platensis*

1.1.1. Структура клітинної стінки спіруліни *Spirulina platensis*

Спіруліна платенсіс (*Spirulina platensis*) - це багатоклітинна спіральна нитчаста мікроводорость. Під мікроскопом Спируліна являє собою набір синьо-зелених ниток, що складаються з циліндричних клітин, укладених в нерозгалужені нитки. Нитки мають рухливість і ковзають уздовж своїх осей. спіральна форма ниток є родовою ознакою спіруліни, але параметри спіралі варіюються у різних видів. Крім того, крок і довжина спіралі може бути різна в залежності від умов вирощування. Діаметр клітин варіюється від 1 до 3 мкм у дрібних видів і від 3 до 12 мкм у великих. Відповідно до даних, отриманими при літературному огляді, клітинна стінка спіруліни складається з чотирьох шарів: L-1 - L-4 (рис.1). Шари L-1 і L-3 є електронпрозорими, тоді як шари L-2 і L-4 - електронощільні. Найвіддаленіший від цитоплазмових мембрани шар L-4 утворений дискретними елементами, розташованими правильними лініями, паралельними осі трихома. Шар L-3 складається з білкових ниток, покладених спіралью навколо поверхні трихома. Ближче до клітинної мембрани розташовані пептидогліканомісний шар L-2 і фібрилярний L-1. Перегородка складається з трьох шарів: до шару L-2 прилягають з обох сторін два шари L-1 (рис.1). Товщина всіх шарів варіюється в діапазоні від 10 до 15 нм і, отже, товщина цільної клітинної стінки спіруліни становить приблизно 60 нм [3].

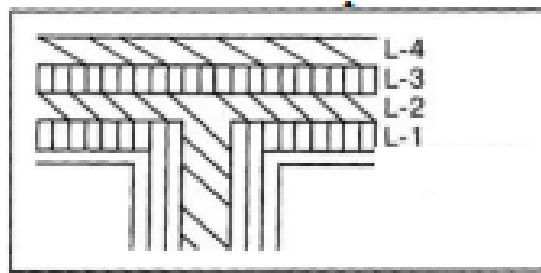


Рис. 1.1. Модель клітинної стінки Спіруліни *Spirulina platensis*

1.1.2. Структура клітини спіруліни платенсіс

У центральній частині клітини спіруліни знаходиться генофором (нуклеоїд), який складається з декількох хроматиносом. Крім цього в клітині міститься кілька структур, оточених цитозолем: фотосинтетичні ламелли, гранули ціанофіціна, карбоксіоми, циліндричні тільця, рибосоми, поліглюкацінові гранули, газові вакуолі, поліфосфатні гранули. Основна частина хлорофілу і каротиноїдів локалізована в фотосинтетичних Ламела. Їх також вважають основним місцем запасів внутрішньоклітинного азоту нарівні з ціанофітовими гранулами, що складаються з аргініну і аспарагінової кислоти. У поліглюканових гранулах відбуваються клітинні накопичення в умовах обмеженої швидкості клітинного розмноження. Поліедричні тільця або карбоксіоми з'являються при високих рівнях освітленості і містять рибулозобіфосфаткарбоксилазу і деякі інші ферменти. Газові вакуолі займають значну частину клітинного обсягу, вони утворені численними везикулами з циліндричними поздовжніми перетинами і шестикутним поперечним перерізом. Як вважають багато дослідників, вони забезпечують плавучість спіруліни [4].

1.1.3. Життєвий цикл спіруліни *Spirulina platensis*

Життєвий цикл спіруліни досить простий, зрілі нитки розламуються в декількох місцях за допомогою формування спеціальних клітин некрідіїв, які піддаються лізису, в результаті чого формуються двоопуклі диски. Фрагменти нитки, що утворилися являють собою короткі ланцюга клітин, які називаються гормогоній, які віддаляються від батьківських ниток і формують нові. Клітини в гормогоній втрачають прикріплені частини некрідіальних клітин і обволікаються на

дистальних кінцях невеликою потовщеною клітинної стінкою. Протягом цього процесу цитоплазма не гранульова і має блідо синьо-зелений колір. Число клітин в гормогоній збільшується шляхом ділення, після чого вони набувають яскраво синьо-зелений відтінок. Нитки збільшуються в довжині і набувають характерну спіральну форму [6].

1.2.Хімічний склад спіруліни *Spirulina platensis*

За вмістом вітамінів і мікроелементів Спіруліна, перевершує багато продуктів харчування, як рослинного, так і тваринного походження. Так, за вмістом вітаміну А Спіруліна перевершує вершкове масло і сир в 400 разів, яйця в 1500 разів, сир і огірки - в 2500 разів, молоко - в 10000 разів. Вітамінів групи В (В1 В2, В3, В5, В6, В9, В12) містяться в спіруліні в 40-150 разів більше, ніж в молоці, сирі, сирі, м'ясі, рибі, яйцях, вершковому маслі. До останнього часу було прийнято вважати, що джерелом найважливішого для організму вітаміну В12 є тільки продукти тваринного походження. З цієї причини противники вегетаріанства одним з головних аргументів на свою користь висували той факт, що тривала відмова від споживання продуктів тваринного походження призведе до виснаження запасів вітаміну В12, що може в свою чергу спричинити серйозні розлади організму і виникнення важких захворювань. При вживанні спіруліни проблема дефіциту вітаміну В12 в організмі людини знімається повністю. У 1 грамі спіруліни вітаміну В12 в засвоєній формі міститься більше, ніж в 100 грамах яловичини вищої категорії, і в 300 разів більше, ніж у свинині, 1 грам спіруліни за вмістом вітаміну В12 еквівалентний 1 літру свіжого парного молока [5].

У спіруліні містяться також вітаміни Е (токоферол), С, мінеральні речовини і мікроелементи: калій, кальцій, магній, цинк, марганець, фосфор, залізо, мікродози йоду, селену, рідкісних металів, що дуже важливо для організму. Тільки в спіруліні і деяких інших синьо-зелених і червоних водоростях містяться такі цінні для здоров'я людини сполуки, як фікоціанін, стимулюючий роботу імунної системи. Гамма-ліноленова кислота, міститься крім спіруліни тільки в материнському молоці. Хлорофіл включений в клітини спіруліни в легко засвоєній формі, він сприяє

відновленню клітин печінки і має протипухлинну дію. Спіруліна містить повний набір всіх незамінних амінокислот: ізолейцин, лейцин, лізин, метіонін, фенілаланін, треонін, триптофан, валін, аланін, аргінін, цистин, гістидин, тирозин, глютамінова кислота, а також більше 2000 ферментів в мікродозах. Склад основних груп речовин, що містяться в сухій натуральній спіруліні, представлений в таблиці 1.1 [7].

Таблиця 1.1

Хімічний склад висушеної біомаси спіруліни

Назва	Вміст, %	Метод виділення
Білки	60	-
Полісахариди	19	
Ліпіди	6	
Мінерали	8	
Вода	7	
Амінокислоти	Вміст в сумі, %	Швидкісна інообмінна хроматографія з використанням амінокислотного аналізатора 835 «Hitachi».
Ізолейцин	4,13	
Лейцин	5,80	
Лізин	4,00	
Метіонін	2,17	
Фенілаланін	3,95	
Треонін	4,17	
Триптофан	1,13	
Валін	6,00	
Аланін	5,82	
Аргінін	5,98	
Аспарагінова кислота	6,43	
Цистин	0,67	
Глютамінова кислота	8,94	

Гліцин	3,46	
Гістидин	1,08	
Пролін	2,97	
Серін	4,00	
Тирозин	4,60	
Макро та мікроелементи	мг/кг	Емісійна полум'яна спектрометрія мінералізованою біомаси з використанням полум'яного спектрофотометра «Flarho-6» Титрування нітратом окисною
Кальцій	1315	
Залізо	580	
Калій	15400	
Магній	1915	
Марганець	25	
Натрій	412	
Цинк	39	
Селен	0,14	
Фосфор	8942	
Хром	1,24	
		Спектральна флуориметр з використанням Спектрофлуориметр LS-100 (PTI, Canada)
Вітаміни	мг/кг	
Тіамін В 1	55,00	
Рибофлавін В 2	40,00	
Ніацин В 3	207,0	
Кальція пантотенат	11,00	
Піридоксин В 6	3,00	
α - токоферол (вітамін Е)	190,00	
Біотин Н	0,4	
Кислота фолієва	0,5	
Кислота нікотинава (РР)	118,00	

1.2.1. Білки спіруліни *Spirulina platensis*

Живильні і фармакологічні властивості спіруліни обумовлені не так індивідуальними компонентами, а скоріше спільним впливом цих компонентів, що діють як єдине ціле, підвищений інтерес до спіруліни пояснюється, перш за все, великим вмістом білка в біомасі, яке досягає 50-70% сухої ваги клітини. Для порівняння, це майже в 3,5 рази більше, ніж в яловичині або курячих яйцях. Білок прийнято вважати повноцінним, якщо поряд з замінними амінокислотами він містить всі незамінні амінокислоти, що не виробляються людським організмом і повинні надходити в нього з їжею. Амінокислотний склад спіруліни ідеально збалансований, якщо не брати до уваги легкий недолік сірковмісних амінокислот, зокрема, метіоніну. Результати аналізу амінокислотного складу Спіруліни наведені в таблицях 1.2. і 1.3. разом з короткою фармакологічною характеристикою кожної амінокислоти (значення можуть змінюватися в залежності від умов навколишнього середовища) [1,8].

Таблиця 1.2

Незамінні амінокислоти

Назва амінокислоти	% від сумарного білка	Характеристика
Ізолейцин	5,7	Потрібно для оптимального росту, розвитку інтелекту і рівноваги азоту в організмі
Лейцин	8,7	Стимулятор функції мозку, підвищує рівень м'язової енергії
Лізін	5,1	Будівельний блок антитіл крові
Фенілаланін	5,0	Необхідний щитовидній залозі для синтезу тироксину, який регулює швидкість метаболізму

Метіонін	2,6	Життєво необхідний, бере участь в метаболізмі жирів і ліпідів, забезпечує здоров'я печінки. Антистресовий фактор. заспокоює нерви
Треонін	5,4	Стимулює функцію шлунково-кишкового тракту
Триптофан	1,5	Покращує засвоюваність вітамінів групи В. Зміцнює нервову систему. діє заспокійливо.
Валін	7,5	Стимулює розумову здатність і м'язову координацію

Таблиця 1.3

Замінні амінокислоти

Назва амінокислоти	% від сумарного білка	Характеристика
Аланін	7,9	Зміцнює клітинні стінки
Аспарагінова кислота	9,1	Сприяє перетворенню вуглеводів в енергію клітини
Цистеїн	0,9	Стимулює діяльність підшлункової залози, яка стабілізує рівень цукру в крові і метаболізм вуглеводів
Глутамінова кислота	12,7	Нарівні з глюкозою, одна з основних паливних молекул для клітин головного мозку
Гліцин	4,8	Підвищує енергетичний статус клітин

Гістидин	1,5	Підсилює передачу нервового імпульсу, особливо в органах слуху. використовувався для лікування деяких випадків глухоти
Пролін	4,1	Попередник глютамінової кислоти
Серин	5,3	Бере участь в утворенні захисних жирових оболонок навколо нервових ниток

Спіруліна в своєму складі містить абсолютно повноцінний білок, він являє собою весь спектр амінокислот. Так вміст незамінних амінокислот досягає 47% від загальної кількості амінокислот. Незамінні амінокислоти - це амінокислоти, які не можуть бути синтезовані в організмі людини, і потреба в цих з'єднаннях задовольняється виключно за рахунок їжі. Незбалансованість харчування по незамінним амінокислотам призводить до серйозних порушень білкового синтезу із негативними наслідками: зміною структури мембран клітинних органел, деградацією ферментної системи регуляції обміну речовин, порушенням біосинтезу важливих азотовмісних сполук і т.д. Наявність високої концентрації білка робить спіруліну необхідною всім літнім людям для омолодження організму. Один з провідних фахівців з спіруліни, R.Henrikson (США), називає спіруліну «Ідеальною їжею, яка уповільнює старіння». «Люди похилого віку, - продовжує учений - прагнуть не тільки продовжити життя, але і поліпшити її якість, зобов'язані приймати цю омолоджуючу добавку. Вона нормалізує стан шкіри, кісток, м'язів, судин ». Виключно високий вміст і якість білків спіруліни дозволяють використовувати цю мікроводорість в якості альтернативного (і навіть єдиного) джерела харчового білка для людини. Для деяких африканських народностей Спіруліна до теперішнього часу є основною їжею. Все більшого розмаху набуває виробництво спіруліни для харчових цілей в таких перенаселених країнах як Китай і Індія, де Спіруліна офіційно визнана «національною їжею». Розроблено рекомендації щодо використання спіруліни (як джерела білка) в харчуванні космонавтів і екіпажів

атомних підводних човнів, а також для усунення білкового дефіциту (перш за все у дітей) в економічно слаборозвинених країнах (Заїр, Центрально-Африканська республіка і ін.). Білки спіруліни відрізняються порівняно невисокою молекулярною масою і легко засвоюються організмом людини. За засвоюваності вони навіть кілька перевершують основний білок молока - казеїн, який використовується в дієтології в якості стандарту для оцінки харчової та енергетичної цінності білків. Перетравлюваність біомаси спіруліни в цілому становить близько 80%. Значною мірою це обумовлено низьким вмістом клітковини (0,4% від суми вуглеводів) і високою активністю власних гідролаз природної спіруліни. Спіруліновий білок необхідний людині при підвищеній стомлюваності, зниженій працездатності, великого фізичного і розумового навантаження, під час і після важких захворювань. Спіруліновий протеїн по всім функціональним параметрам може конкурувати з м'ясним. Щоденне додавання в їжу спіруліни в профілактичних дозах (1-3 г) повністю знімає проблему дефіциту незамінних амінокислот і білкової недостатності при будь-якому способі харчування [10-13].

1.2.2. Вміст вітамінів у спіруліні *Spirulina platensis*

Роль вітамінів в збереженні здоров'я важко переоцінити. В той же час в найбільш вітамінізованих продуктах їх стає все менше і менше. Виникає життєва потреба отримувати вітаміни з таблеток. Правда, таблетки можуть бути синтетичними, і це теж непогано, але можуть бути абсолютно натуральними, що, звичайно, значно краще і в сенсі засвоюваності і по силі дії. Спіруліна містить оптимальні концентрації всіх основних вітамінів в натуральному, природному вигляді, тому вона надзвичайно корисна для здоров'я.

Вітамін А необхідний для формування слизової оболонки і родопсина - зорового пігменту. Дефіцит вітаміну А може призвести до сліпоти, b-каротин і вітамін А використовуються як терапевтичні засоби, які здатні також зменшити вміст холестерину в сироватці крові і знизити ймовірність захворювання на рак. Він необхідний при серцево-судинних захворюваннях, шкірних проблемах, порушення

гормонального балансу у жінок. Спіруліна за даними різних дослідників містить в десять - двадцять разів більше натурального вітаміну А, ніж морква. зміст вітаміну А в десяти грамах спіруліни становить 20000-23000 МО (Міжнародних одиниць) при середній денній потреби 5000 МО, встановленої FDA (спеціальний комітет в США). Цих же норм дотримуються в більшості країн світу.

Вітаміни групи В, перш за все, необхідні для нормального функціонування нервової системи, м'язів, травного тракту, шкіри, волосся, очей, ротової порожнини, печінки, системи кровотворення. Спіруліна є найбагатшим джерелом вітамінів групи В. Всі вітаміни комплексу В, так само, як і інші представники цієї групи, так необхідні людині для відновлення і збереження здоров'я, знаходяться в спіруліні в натуральному стані і оптимальною концентрації.

Вітамін С відіграє важливу роль в окисно-відновних процесах, що відбуваються в організмі. L-Аскорбінова кислота, будучи найсильнішим відновником живого організму, бере участь у багатьох біохімічних процесах транспорту електронів. Організм людини не здатний синтезувати аскорбінову кислоту і повинен отримувати її з їжею.

Вітамін Е широко прописували акушери вагітним жінкам, одночасно рекомендували білий хліб, основне джерело цього вітаміну, однак, дотримуючись обережність, щоб не набрати зайвої ваги, що може виявитися ще більш шкідливим для плода. Але властивості вітаміну Е не обмежуються плодючістю. Перш за все, він найпотужніший антиоксидант серед вітамінів. Спіруліна є найбагатшим продуктом за вмістом вітаміну Е. Його концентрація в спіруліні в три рази вище, ніж в зернах пшениці, які вважалися раніше рекордсменами. Активність спірулінового вітаміну майже в 50 разів перевищує активність його синтетичного аналога. У спіруліні вітамін Е знаходиться в комплексі з багатьма іншими натуральними вітамінами, і це робить його ще більш ефективним.

1.3. Фармакологічна дія спіруліни *Spirulina platensis*

За даними Всесвітньої Організації Охорони здоров'я Спіруліна за своїми потенційним можливостям повинна бути поставлена в перший ряд медичних

препаратів, які використовуються для оздоровлення організму. Спектр дії Спіруліни великий, обнадіюють результати досліджень щодо застосування Спіруліни в самих різних напрямках медицини.

Спіруліна є потужним стимулюючим засобом для імунної системи. У наукових дослідженнях на мишах, хом'яків, курчатах, індичка і кішках було обґрунтовано показано, що Спіруліна значно покращує функції імунної системи. Вчені медики встановили, що Спіруліна не тільки стимулює імунну систему, але також значно посилює здатність організму генерувати нові клітини крові, покращує функції щитовидної залози і селезінки. Вчені також відзначають, що Спіруліна викликає збільшення числа макрофагів, які набувають великої активності і стають більш ефективними в знищенні мікробів. Годування Спіруліною показують, що навіть невеликі її кількості зміцнюють як гуморальні, так і клітинні ресурси імунної системи. Спіруліна прискорює виробництво антитіл і цитокінінів, дозволяючи їм більш ефективно охороняти організм від мікробів. Спіруліна регулює ключові органи імунної системи - печінку, селезінку, щитовидну залозу, лімфовузли, аденоїди, кісткові тканини, покращуючи їх здатність функціонувати, незважаючи на несприятливий вплив навколишнього середовища і проникнення всляких токсинів і інфекцій [9].

1.4. Висновки до розділу

Отже, проаналізувавши інформацію із першого розділу можна зробити такі висновки, що спіруліна платенсіс (*Spirulina platensis*) - це багатоклітинна спіральна нитчаста мікроводорость. Діаметр клітин варіюється від 1 до 3 мкм у дрібних видів і від 3 до 12 мкм у великих. Клітинна стінка спіруліни складається з чотирьох шарів. Спіруліна містить повний набір всіх незамінних амінокислот: ізолейцин, лейцин, лізин, метіонін, фенілаланін, треонін, триптофан, валін, аланін, аргінін, цистин, гістидин, тирозин, глютамінова кислота, а також більше 2000 ферментів в мікродозах. Також спіруліна багато на вітаміни та мінерали.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ СПІРУЛІНИ *SPIRULINA PLATENSIS*

2.1. Отримання спіруліни у відкритому басейні

Спіруліна - мікроскопічні водорості, що мешкають переважно в теплих водоймах. Спіруліна є одним з найдавніших видів на Землі, тому володіє надзвичайною пристосованістю до різних природних умов. В процесі еволюції, проходячи жорсткі умови конкуренції, клітини спіруліни придбали здатність до поділу при сприятливих умовах з високою швидкістю (подвоєння біомаси за 5 год). Біомаса спіруліни придатна до вживання як найпростішим організмам, так і риbam та іншим тваринам. Більш того, унікальність біохімічного складу біомаси спіруліни робить привабливим можливість вживання спіруліни людьми як джерела найважливіших компонентів, що беруть участь в обміні речовин. Зростаюча нестача таких речовин в раціоні людини, особливо для жителів великих міст і екологічно несприятливих районів, призводить до різних порушень здоров'я аж до летальних випадків. За медичними висновками, щоб не допустити подібних проявів, лікарі рекомендують вживання біомаси спіруліни в якості харчової добавки. Регулярне вживання спіруліни (1-2 г в день) знижує ризик багатьох захворювань практично до нуля. Найбільш важливим є той факт, що спіруліна, як харчова добавка, є таким же організмом як і вищі рослини (кріп і морква), вживання яких в їжу, на відміну від штучних препаратів, не тягне за собою ніяких побічних ефектів. Спочатку збір спіруліни проводили безпосередньо в природних водоймах Африки і Америки, в яких через їх географічного положення та хімічного складу води склалися сприятливі умови для зростання спіруліни. Надалі потреби в спіруліни стали зростати, що привело до розробки технологій вирощування спіруліни в штучних водоймах. На сьогоднішній день на комерційній основі біомасу спіруліни виробляють і споживають більш ніж в 60 країнах світу: Мексиці, Росії, Японії, Індії,

Китаї, Таїланді, США, - де виробництво спіруліни перевищує тисячі тонн на рік. Для будь-яких мікробіологічних об'єктів технології отримання біомаси схожі. Для суто спеціалізованих цілей мікрородості вирощують в строго контрольованих умовах (керований біосинтез), в спеціальних культиваторах, з метою отримання біомаси з заданим біохімічним складом. Найбільш проста у виконанні технологія вирощування спіруліни, оскільки, володіючи високою ступенем пристосованості, спіруліна не вимагає дорогого обладнання (спеціалізованих культиваторів), що забезпечують строго певні умови для зростання клітин. Там, де це можливо з екологічних і кліматичних умов, спіруліну вирощують в ставках під відкритим небом або в басейнах в стандартних сільськогосподарських теплицях. Важливою перевагою такого виробництва є використання природного освітлення (енергетичний ресурс), що в значній мірі знижує собівартість кінцевого продукту. Опишемо коротко основні етапи виробництва біомаси спіруліни в звичайній сільськогосподарській теплиці, яка легко піддається потрібного переобладнання.

Підготовка. Будівництво і установка басейнів в теплиці, при необхідності підготовка ємностей для води, підготовка необхідного інструментарію для збору і промивання врожаю, підготовка блоку сушки біомаси. Чим більше загальна площа басейнів, тим більший можна отримати урожай, отже, від цього залежить і розміри блоку сушки біомаси, витрата води, кількість обслуговуючого персоналу і т. д.

Запуск виробництва. На цьому етапі невеликий обсяг біомаси спіруліни поміщають в басейн зі спеціально приготовленим живильним середовищем. У міру наростання біомаси збір врожаю не проводять, а заповнюють інші басейни. Таким чином поступово до тих пір, поки не заповняться всі басейни. Заселення басейну предкультурою (об'ємом 50 літрів). З метою уникнення надто сильного розчинення, спочатку використовують тільки частина басейну - поверхню в 1 м². Так створюється міні-басейн. Для цього можна скористатися жердиною, перекинутою через основний басейн. При цьому, потрібно не пошкодити лист поліетилену. Герметичність отриманого міні-басейну перевіряється 100 літрами води. Потрібно почекати кілька годин і якщо вода не витекла, можна додати добрива і отримати вже необхідний обсяг живильного розчину. Потім туди відправляємо 50 літрів щільної

культури спіруліни. Періодично включаємо насос для перемішування і добиваємося подальшого ущільнення культури з прозорістю менше 2 см. При досягненні заданої щільності, перегородка забирається. Культура з міні-басейну повинна розійтися по всьому басейну з додаванням 250 літрів води. При глибині рідини менше 10 см, необхідно додати ще 14 чистої води. Чекаємо, доки прозорість спіруліни буде знову менше 2 см і додаємо туди 600 літрів живильного розчину. У підсумку отримуємо басейн з об'ємом культури в 1000 літрів (25 см глибиною і 4 м²). Коли концентрація спіруліни підвищиться, а прозорість культури стане менше 2-3 см - пора збирати урожай.

Збір врожаю. Оскільки швидкість зростання мікродоростей досить висока, збір врожаю проводять щодня. При досягненні певної щільності в басейнах частина біомаси спіруліни спливає на поверхню, що дозволяє проводити збір врожаю безпосередньо з поверхні.

Підживлення. У міру зростання спіруліни і збору врожаю, середа в якій ростуть мікродорості приходить до виснаження. Щоб поповнити нестачу елементів живлення, в середу періодично додають мінеральні солі - джерело азоту, фосфору, заліза, магія тощо.

Промивання біомаси. Оскільки спіруліна росте у воді з високим вмістом різних неорганічних солей (живильне середовище), зібрану біомасу обов'язково піддають промивці. Для цього біомасу поміщають на сито і промивають звичайної прісною водою.

Сушка біомаси. Відмиту біомасу спіруліни сушать теплим повітрям при температурі не вище 60 °С. Для цього біомасу наносять тонким шаром на поліетилен і висушують протягом 3-4 год, не допускаючи потрапляння прямих сонячних променів, оскільки інтенсивний сонячне світло призводить до руйнування пігментів, що помітно знижує якість біомаси спіруліни.

Зберігання біомаси. Уже висушену біомасу спіруліни збирають в герметичну тару для зберігання, наприклад, поліетиленові мішки. Герметичність бажана, оскільки висушена біомаса мікродоростей досить гігроскопічна. Зберігають спіруліну в темному місці при кімнатній температурі. Вкрай небажано попаданні

вологи на висушену біомасу спіруліни. У таких ситуаціях біомаса не підлягає повторній сушці, оскільки високий вміст білка і волога - найбільш сприятливе середовище для розвитку бактерій. Часом досить декількох хвилин бурхливої діяльності бактерій, щоб біомаса спірліни придбала характерний вигляд і запах зіпсованої продукції (Рис. 2.1.) [14].



Рис.2.2. Зображення відкритого басейну для культивування спіруліни (*Spirulina platensis*)

2.2. Отримання спіруліни у закритих фотореакторах

Спіруліна - облігатний фотоавтотрофи: вона не може розвиватися в темряві на субстраті, що містить органічний вуглець. Увечері водойму можна «доосвітлювати». У денні години водорість поглинає вуглекислий газ і переважно нітрати. У водойму додають CO₂. Оптимальний показник зростання спіруліни в лабораторних умовах

спостерігається при температурі 35-37 ° С. Хороший вихід спіруліни отримують в закритих фотореакторах: системах прозорих ємностей (прозорих труб або пластику, скла), усередині яких циркулює живильне середовище з водоростями. У цю систему додають азот, фосфор, калій, мікроелементи, CO₂. Необхідний для фотосинтезу світло забезпечується природним сонячним освітленням. Щодня частина культури збирається з системи цих труб. А також періодично йде додавання нової культури для підтримки циклу виробництва. Продуктивність таких фотореакторів часто в 10 разів вище, ніж в басейнах. Ознайомившись з методом виробництва спіруліни в закритих, скляних фотореакторах можна зробити такий висновок, що метод є економічно не вигідним тому, що використовується дорожка установка для культивування. Але вихід продукту збільшується у декілька разів. Наприклад, в Голландії поряд із застосуванням басейнів, для вирощування водоростей використовують спеціальні трубки, в яких процес зростання прискорюється в 4 рази, завдяки спеціально створеним умовам. У цьому методі є невеликий мінус - трубки доводиться постійно чистити. Вирощування водоростей для біопалива на ряді заводів здійснюється в біореакторах з використанням замкнутих циклів виробництва. При цьому виділяється вуглекислий газ в ході фотосинтезу переробляється в кисень (Рис. 2.2.). Такі підприємства не завдають шкоди навколишньому середовищу [18].



Рис. 2.3. Зображення закритих фотореакторів для культивування спіруліни (*Spirulina platensis*)

2.3. Характеристика готового продукту

Спіруліна - унікальний харчовий продукт. Клінічні дані, отримані в провідних медичних наукових і лікувальних установах світу, показали, що біологічно активні речовини природньої мікробродорості Спіруліни, що діють в комплексі, мають високу функціональну активність і виявляють різноманітні властивості. Встановлено, що спіруліна:

- є джерелом вітамінів, есенціальних амінокислот, поліненасичених жирних кислот, антиоксидантів, макро- і мікроелементів;
- містить найбільш важливі вітаміни і мікроелементи в органічній формі, що істотно полегшує їх всмоктування в шлунково-кишковому тракті людини і дозволяє рекомендувати продукт для профілактики дефіциту мікроелементів і перш за все залізодефіцитних станів;
- активізує і нормалізує обмін речовин;
- збільшує засвоюваність вітамінів і мікроелементів їжі;
- сприяє нормалізації складу (збільшує кількість молочнокислих бактерій) і функціональної активності мікрофлори кишечника;
- знижує надмірний вміст цукру в крові, зменшує потреба в цукрознижуючих препаратах та інсуліні у хворих на цукровий діабет;
- при використанні в дитячому харчуванні сприяє повнішому засвоєнню їжі, знижує ризики шлунково-кишкових захворювань, покращує показники імунної системи, істотно знижує захворюваність на гострі респіраторні інфекції, полегшує адаптацію дітей до умов дошкільних установ;
- підвищує неспецифічну резистентність організму до дії несприятливих чинників навколишнього середовища;
- сприяє зв'язуванню і виведенню з організму ксенобіотиків;
- стимулює діяльність кровотворної системи;
- речовини спіруліни знищують гнильні бактерії і допомагають регенерації мікрофлори, що виробляє вітаміни в шлунково-кишковому тракті, в тому числі

вітамін В12 [17].

Біологічна маса спіруліни витягується з живильним рідкого середовища осадженням, згущується і висушується у вигляді порошку, який містить: 60 - 70% засвоюваного протеїну (білка); 1,5 - 12% ліпідів з незамінними жирними ненасиченими кислотами; 10 -12% засвоюваних вуглеводів; Вітамін В12 (в три рази більше, ніж в печінці); Бета-каротин (в 15 разів більше, ніж у моркві і обліпсці); Вітаміни В1, В2, В6, РР; Амінокислоти: ізолейцин, лейцин, лізин, метіонін, фенілаланін, треонін, триптофан, валін, аланін, аргінін, цистин, глутамінова кислота, гістидин, тирозин; Мінерали: калій, кальцій, магній, цинк, марганець, залізо, фосфор. Біомаса спіруліни застосовується в якості харчового продукту, а також лікарського препарату як високоефективний засіб від 80% хвороб. Засвоюваність протеїну, жирів і вуглеводів спіруліни організмом людини і тварин перевершує 95%, що не зустрічається в жодному іншому рослинному або тваринному харчовому продукті. Цим і зумовлена її висока цінність. Подібні характеристики і у водорості - ламінарії, яка вже знайшла широке застосування у виробництві БАДів і продуктів харчування.

Що побічно доводить актуальність вирощування спіруліни. Спіруліна застосовується в якості кормової добавки для тварин, вона відома також як сировину для парфумерних і лікарських препаратів. І випускається: лікарська і харчова - в таблетках і гранулах; кормова - у вигляді порошку. Всі види продукту мають герметичну упаковку, що захищає від кисню і світла. Широкий спектр застосування спіруліни складається з двох основних напрямків: використання самої біомаси та використання біомаси спіруліни як сировини для отримання будь-яких цінних речовин. Перший напрямок включає в себе різноманітні способи використання біомаси спіруліни як харчової добавки в раціоні людини і тварин, використання біомаси спіруліни в медикобіологічних процедурах лікувального та профілактичного характеру. Особливе місце займає використання біомаси спіруліни в якості джерела мікроелементів (йод, селен та ін.) вкрай необхідних для повноцінної життєдіяльності людини. Біомаса спіруліни, як готовий продукт до вживання, використовується в різних сферах людської діяльності: медицині, косметиці, спорті, тваринництві, бджільництві, рибництві, птахівництві, ветеринарії та ін. Другий

напрямок є не менш важливими - отримання з біомаси мікродоростей будь-яких речовин : амінокислоти, протеїни, різноманітні вуглеводи, ліпіди, пігменти, вітаміни . У спіруліні на перше місце виступають природні барвники (Пігменти) фікобіліпротеїни (Фікоціанін). На щастя, зміст таких пігментів у спіруліні досить високо (близько 10%), що завжди робить можливим використання біомаси як сировини для отримання пігментів [19-23].

2.4. Контроль готового продукту

Контроль за відсутності мутацій штаму і біохімічний контроль вихідної продукції накладає ряд обмежень на виробництво харчових білкових біомас.

Спіруліна є однією з форм ціанобактерій, деякі з яких виділяють токсини: мікроцистин та інші. У деяких зразках спіруліни було виявлено присутність мікроцистин, хоча їх концентрація була нижчою за межу, допустимого Департаментом охорони здоров'я штату Орегон . Мікроцистин може викликати шлунково-кишкові розлади і, в довгостроковій перспективі, рак печінки , що висуває підвищені вимоги до вибору виробника добавок з спіруліни. Ці токсичні сполуки не виробляються самою спіруліною , але можуть виникати в результаті забруднення партій спіруліни іншими видами синьо-зелених водоростей, які продукують токсини. Оскільки спіруліна вважається харчовою добавкою, у багатьох країнах, зокрема, в США, відсутня жорстке регулювання умов її виробництва і контроль дотримання стандартів безпеки . Американський Національний інститут здоров'я класифікує добавки спіруліни, як «імовірно безпечні», за умови, що вони вільні від забруднення мікроцистин, і «швидше за все, небезпечні» в разі такого забруднення, особливо для дітей. З огляду на відсутність необхідних нормативів і стандартів, деякі дослідники громадської охорони здоров'я в США висловили стурбованість тим, що споживачі не можуть бути впевнені у відсутності забруднення спірулінових добавок іншими синьо-зеленими водоростями. Також викликає занепокоєння нерідке забруднення спірулінових добавок важкими металами. Державна служба харчових продуктів і медикаментів Китаю повідомляла, що забруднення домішками свинцю, ртуті та

миш'яку часто зустрічаються в спірулінових добавках, які є в Китаї [24-27].

У зв'язку з дуже високим вмістом вітаміну К в спіруліні, пацієнти, які проходять лікування антикоагулянтами, повинні перед вживанням добавки проконсультуватися з лікарем для коригування необхідної дози ліків. Як і всі багаті білком продукти, спіруліна містить значну кількість амінокислоти фенілаланіну (2,6-4,1 г/100 грамів продукту) , якої слід уникати людям, хворим на фенілкетонурію [28].

2.5. Висновки до розділу

Отже,отримання спіруліни у відкритих бачейнах в теплицях складається з таких етапів виробництва біомаси та її накопичення: підготовча стадія; запуск виробництва; збір врожаю; підживлення; промивання біомаси; сушка біомаси; зберігання біомаси. Проаналізувавши такий метод виробництва з'ясували,що метод культивування у відкритих басейнах є економічно вигідним, так як має найменші фінансові затрати на виробництво,але не ефективним, тому що передбачає малий вихід продукту. Але метод культивування спіруліни у закритих фітореакторах є економічно не вигідним тому, що використовується дорожа установка для отримання продукту. Але вихід біомаси збільшується у декілька разів.

Продукція із водорості спіруліни проходить контрольна на відсутність мутаційних штамів, що не виробляються самою спіруліною , але можуть виникати в результаті забруднення партій спіруліни іншими видами синьо-зелених водоростей, які продукують токсини та біохімічний контроль.

РОЗДІЛ 3

ОТРИМАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН СПІРУЛІНИ *SPIRULINA PLATENSIS*

3.1. Отримання білка для косметичного призначення з мікроводорості *Spirulina platensis*

В даний час спостерігається стійка тенденція збільшення асортименту косметичних продуктів, збагачених біологічно активними речовинами, пошук нових природних косметичних інгредієнтів. Одним з перспективних сировинних ресурсів цього напрямку може бути мікроводорості *Spirulina platensis*. Біомаса мікроводорості містить повноцінний білок - до 60% , поліненасичені жирні кислоти, вітаміни групи В, β-каротин, мікроелементи і т.д. Найбільш ефективно можна використовувати цей природний комплекс у формі екстрактів. Однак значною перешкодою для процесу екстракції є складна багат шарова структура клітинної стінки мікроводорості. При розробці технології отримання екстрактів з мікроводорості *Spirulina platensis* вирішували проблему максимального вилучення біологічно активних речовин та збереження їх властивостей. З цією метою клітинну стінку мікроводорості руйнували дією ферментних препаратів різного типу: №1 включав целлюлазу, пектиназу, протеїназу; №2 - лізоцим; №3 - целлюлазу; №4 - пектиназу і амілазу. Ферментативний гідроліз проводили 1 год при температурі 45 градусів , гідролізований продукт висушували до концентрації сухих речовин 50%, потім переходили до екстракції [30-35].

При виборі раціональних умов екстракції були вивчені наступні параметри: гідромодуль (співвідношення сировина - екстрагент), тривалість і температура екстракції, тип екстрагента. З точки зору процесу екстракції хімічні речовини спіруліни наближено можна розділити на дві групи – водорозчинні і жиророзчинні. До першої групи належать білкові речовини і продукти їх гідролізу, а також деякі водорозчинні вітаміни, солі, біологічно активні речовини. До другої групи належать

хлорофіл, деякі вітаміни і біологічно активні речовини. До початку екстракції на зразок спіруліни діяли ферментними препаратами різного типу. Ферментативний гідроліз проводили 1 год при температурі 45 градусів, гідролізований продукт висушували до концентрації сухих речовин 50%, потім переходили до екстракції. Екстракцію проводили дистильованою водою з температурою 25 градусів протягом 1 год. У завершенні процесу екстракт відокремлювали центрифугуванням при швидкості 1000 об / хв. оскільки основним водорозчинним з'єднанням спіруліни є білок, в центрифугат визначали сумарну концентрацію білків і продуктів їх гідролізу.

Далі оцінювали, як впливають час і температура екстракції на вихід білка в екстракт. Зразок мікроводорості *Spirulina platensis*, після попереднього дії ферментного препарату суміш ферментів целюлазу, пектиназу, протеїназу, змішували з водою в співвідношенні 1:45 і витримували від 0,25 до 4 год. Екстракцію вели при температурі 250 градусів. В отриманих екстрактах визначали концентрацію білка і розраховували вихід білка з мікроводорості в процентах по відношенню до його початкового змісту в зразку.(Рис.3.3.) Вплив температури екстракції на вихід білка в водний екстракт представлено на (Рис 3.4.). Тривалість екстракції становила 1 год, гідромодуль 1:45 [36-40].

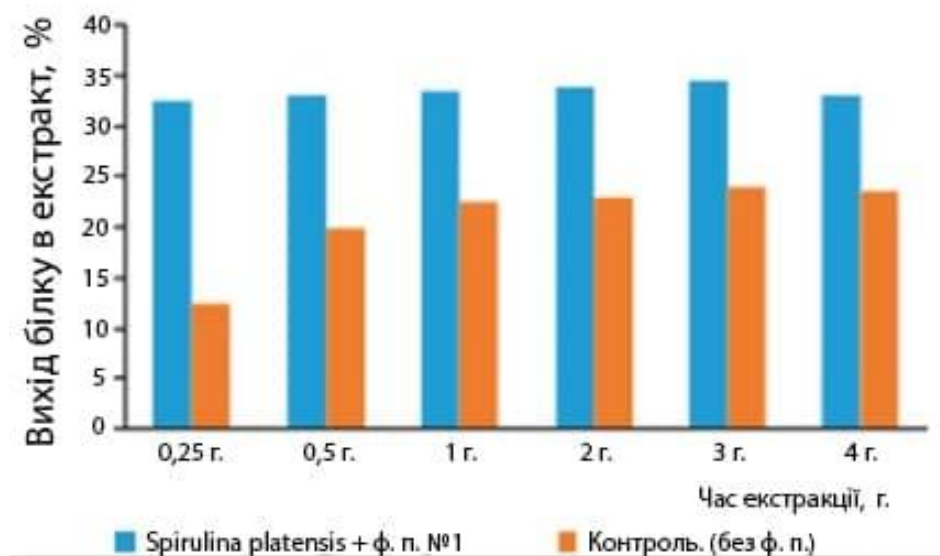


Рис.3.4. Вплив часу екстракції на вихід білка в екстракт з мікроводорості *Spirulina platensis*

На рисунку 3.3. показано, що зміна часу екстракції від 0,25 до 4 годин впливає на вихід білка з спіруліни. При збільшенні часу екстракції від 0,25 до 3 год концентрація білка водному екстракті зростала: з дослідного зразка (з дією ф.з.) в 1,07 рази, з контрольного - в 1,82 рази. Подальше збільшення часу екстракції до 4 год незначно знижувало вихід білка. Аналізуючи результати, можна зробити висновок, що дія ферментативного комплексу на клітку спіруліни настільки велика, що навіть мінімального часу екстракції (0,25 год) досить для досягнення високого виходу екстрактивних речовин. Раціональним з точки зору технології отримання екстракту і використання обладнання можна вважати час процесу не більше 1 год. У разі, коли за технологічним завданням потрібно отримати максимальний вихід екстрактивних речовин, тривалість екстракції слід збільшити до 3 год [42-45].

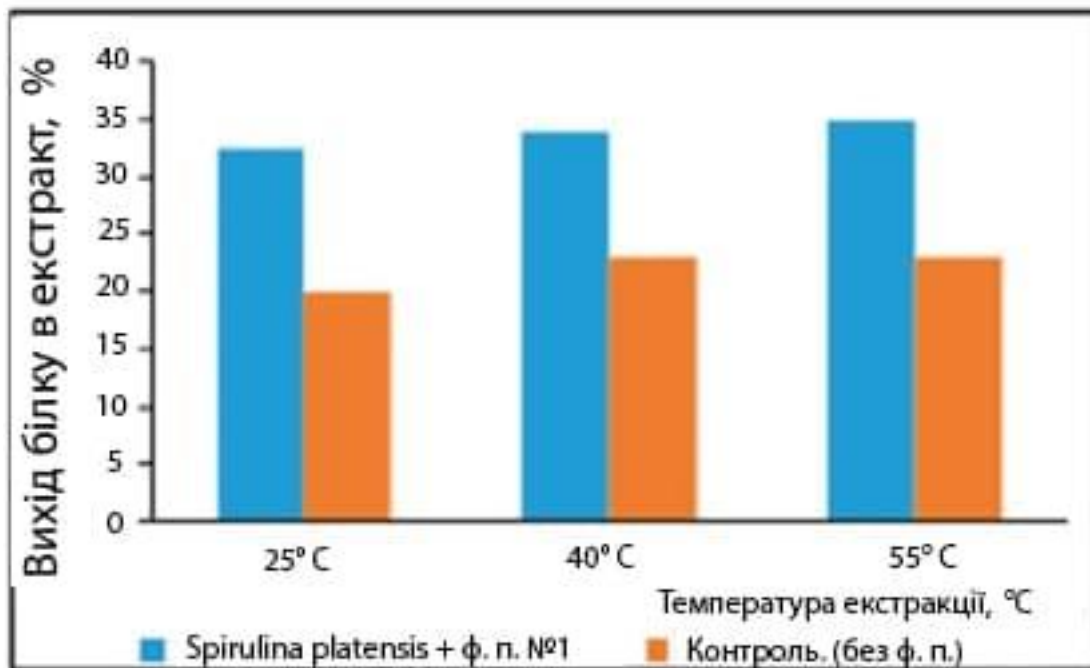


Рис.3.5. Вплив температури екстракції на вихід білка в екстракт з мікроводорості *Spirulina platensis*

3.2. Методи отримання каротиноїдів із спіруліни *Spirulina platensis*

Метод отримання комплексу каротиноїдів з біомаси спіруліни включає екстракцію висушеної та подрібненої біомаси спіруліни. Екстракцію проводять сумішшю Фолча (спирт-хлороформ у пропорції 1: 1 за обсягом), при температурі 5-7 ° С протягом 72 годин, потім дистильованою водою, осаджують каротиноїди, і промивають хлороформом. Метод належить до біотехнологій і може бути використана у фармацевтичній та біотехнологічній галузях для виробництва ліків та профілактичних засобів, що включають комплекс каротиноїдів із біомаси *Spirulina platensis*. Відомо, що в біомасі спіруліни містяться фотосинтетичні пігменти, що належать до класу каротиноїдів, їх вміст сягає до 0,2-0,5%. Каротиноїди - це жиророзчинні пігменти, які широко використовуються в медицині та фармакології завдяки своїм унікальним онкопротекторним та імуномодулюючим властивостям [41].

При створенні препаратів на основі каротиноїдів застосовують пігменти в кристалічній формі або у вигляді водно-спиртових екстрактів. Широке використання пігментів у кристалічній формі обмежене через високу вартість, а існуючі технології отримання екстрактів певних видів каротиноїдів не дозволяють отримувати доступні ліки для медицини. Відомо, що отримати доступні препарати на основі каротиноїдів із біомаси спіруліни стандартними методами практично неможливо. Не дивлячись на існуючу цікавість, каротиноїди не набули широкого поширення в медицині, оскільки технологія їх отримання все ще залишається досить трудомісткою. Наприклад, технологія вилучення з мікродоростей такого цінного каротиноїду, як фукоксантин, обов'язково містить хроматографічне розділення пігментів, що збільшує вартість кінцевого продукту. Тому ціни у світі на ліки на основі окремих каротиноїдів залишаються високими. Сирі або заморожені морські водорості гідролізують водним розчином соляної кислоти, екстракт зливають і направляють на екстракцію водорозчинних полісахаридів осадженням етиловим спиртом. Залишок екстрагували 96% етиловим спиртом, отримуючи суміш, що включала цільові продукти [45].

Отриманий спиртовий екстракт концентрують і з концентрату гексановим розчинником екстрагують суміш вільних жирних кислот, стеринів, похідних пігментів, після чого суміш поліфенольних сполук і пігментів екстрагують дихлорметаном або хлороформом. За допомогою колонкової хроматографії на силікагелі при зниженому вивільненні тиску цільових продуктів: вільних жирних кислот, стеринів, похідних хлорофілів та каротиноїдів. Завдяки застосуванню колонкової хроматографії кінцеві продукти мають високу вартість, що обмежує їх використання в медичних цілях. Відомий спосіб виділення пігменту фукоксантину з морських бурих водоростей. У способі чорноморські бурі водорості подрібнюють, заливають 96% етиловим спиртом у співвідношенні 1: 2. Екстракцію проводять при кімнатній температурі протягом 3 днів. Рівний об'єм води (1: 1) додавали до відфільтрованого спиртового екстракту і отриману суспензію витримували протягом 3 днів при 57 ° С. Водно-спиртовий екстракт з вмістом каротиноїдів 0,05-0,06% зливають, і осад знову екстрагують 96% етиловим спиртом (1:10). Це дає концентрований розчин, що містить 0,2-0,25% . Недоліком існуючої технології є те, що вона розроблена для бурих водоростей і не застосовується для вилучення каротиноїдів з ціанобактерій (*Spirulina platensis*). Спосіб отримання каротиноїдного комплексу з біомаси спіруліни базується на завданні створення простої та ефективної технології отримання пігментів з біомаси спіруліни. Проблема вирішується наступним чином: сиру біомасу *S. platensis* висушують до повітряно-сухого стану, потім подрібнюють і заповнюють сумішшю Фольху. Інкують при температурі 5-7°C протягом 72 годин, потім додають дистильовану воду, в результаті чого осідає каротиноїдний комплекс. Отриманий комплекс очищають багаторазовим промиванням хлороформом, потім сушать у потоці інертного газу [46-51].

Автори експериментально встановили, що при витриманні екстракту спіруліни протягом 72 годин при температурі 5-7 ° С утворюється каротиноїдний комплекс, який легко виділити без хроматографічних методів. Основні пігменти комплексу міксоксантофіл та осцилаксантин - мають високу протипухлинну активність. Новим у пропонованому способі є використання спіруліни в якості джерела пігментний комплекс, екстракт якого виготовлений без використання хроматографічних методів.

Значення кількісних параметрів заявленого способу, режимів і умов виробництва встановлюються авторами в оптимальних межах для досягнення технічного результату. На відміну від існуючих способів отримання кристалів або екстрактів деяких видів каротиноїдів з біомаси спіруліни, запропонований спосіб є простим і дешевим, без необхідності в спеціальному обладнанні, що є дорогим. Приклади здійснення способу:

- 100 г неочищеної біомаси спіруліни сушать до повітряно-сухого стану, подрібнюють до 0,1 мм і заливають 400 мл суміші Фольча (спирт- хлороформ у співвідношенні 1: 1 за обсягом). Розчин витримують на холоді при температурі 5 ° С протягом трьох днів. Після фільтрування осад промивають 300 мл суміші Фольча. До фільтрату додають 1000 мл дистильованої води, а екстракт хлороформу промивають дистильованою водою 2 рази по 500 мл для видалення спиртової фракції. Після осадження каротиноїдів на стінки посудини розчин зливають, а каротиноїдний комплекс зі стінок колби багаторазово промивають хлороформом для видалення ліпідної фракції. Після промивання каротиноїдного комплексу його сушать при кімнатній температурі в потоці інертного газу;

- 37 г сухої на повітрі біомаси спіруліни подрібнюють до 0,1 мм і заливають 200 мл суміші фольги (спирт: хлороформ у пропорції 1: 1 за обсягом). Розчин витримують при температурі 7 ° С протягом 3 днів. Після фільтрування осад промивають 200 мл суміші Фольча, потім додають 700 мл дистильованої води. Утворений хлороформний екстракт промивають кілька разів водою по 300 мл (загальний об'єм водного екстракту 1,6 л). Після осадження каротиноїдного комплексу його відокремлюють центрифугуванням і повторно промивають хлороформом для видалення ліпідної фракції. Вихід комплексу каротиноїдів на суху масу спіруліни становить 0,76%. У отриманому комплексі концентрація каротиноїдів становить 1,1 [52-54].

3.3. Способи екстракції біологічно активних речовин спіруліни *Spirulina platensis*

Екстракція - один з давньої ших методів виділення біологічно активних речовин (БАР) з природних рослинних джерел і в даний час залишається основним методом при отриманні БАР. У науковій лабораторії різноманіття видів екстрагуються органічних речовин сприяло створенню і розвитку великої різноманітності методів екстракції, які застосовують не тільки для виділення БАР з рослинної сировини, а й для поділу суміші речовин і очищення індивідуальних органічних сполук від домішок.

Одним з найбільш чутливих методів поділу і визначення чистоти невеликих (міліграмових) кількостей природних і синтетичних органічних сполук є протитечійне розподіл. Нові методи протivotочної екстракції з великою розділової здатністю в даний час безпосередньо пов'язані з розвитком хроматографічних методів: екстракція твердої речовини рідиною - з адсорбційної хроматографією, екстракція рідини рідиною - з розподільною хроматографією. Дуже часто між цими процесами не можна провести чіткої межі. Для деяких видів екстракції історично виникли назви, які постійно поповнюються новими, відображаючи специфіку або нюанси конкретного методу екстракції. Найбільш часто застосовують прості у виконанні і результативні методи: мацерація, дігерірованіє, перколяції, перфорація і екстрагування.

Метод мацерації полягає в тому, що речовина в твердій фазі в подрібненому рослинному джерелі екстрагують багаторазово при нормальній температурі невеликими порціями розчинника. Дігерірованіє відрізняється від мацерації лише тим, що екстракція проводиться при нагріванні. При використанні методу перколяції речовина в твердій фазі екстрагують розчинником при нормальній температурі протитечійним методом. Просте екстрагування полягає в тому, що речовина екстрагують з розчину однією порцією розчинника. Якщо екстракція повторюється кілька разів, то це повторне або фракційне екстрагування. Якщо речовина безперервно екстрагують розчинником з розчину, то такий метод носить назву

перфорація. При використанні протитечії процес називається протитечією перфорацією. Ефективність будь-якого виду екстракції твердої речовини рідиною залежить перш за все від його розчинності і швидкості переходу з однієї фази в іншу. Розчинність можна змінити, підбираючи відповідний розчинник, в який переходить переважно необхідну речовину, а присутні забруднення залишаються в твердій фазі. Швидкість переходу речовини з твердої фази в розчин визначається, в основному, швидкістю проникнення рідини в тверду фазу, швидкістю дифузії речовини в рідині і швидкістю видалення речовини з поверхні розділу фаз. На відміну від системи двох рідких фаз рівновагу на кордоні твердої і рідкої фаз настає дуже повільно. Прискорити наближення до рівноважного стану можна шляхом збільшення поверхні твердої фази за рахунок подрібнення зразка або постійною подачею свіжого розчинника на кордон фаз. Крім того, можна прискорити досягнення рівноваги за допомогою простого перемішування (при мацерації і дігерірованні) або за допомогою противотока (при перколяції) [55].

Мацерація є простим у виконанні і технічному оснащенні спосіб екстракції, коли тверду фазу розмішують з розчинником і фільтрують. Ретельне подрібнення підвищує ступінь екстрагування твердої речовини. Ефективність процесу збільшується також при застосуванні надлишку розчинника, постійному перемішуванні і при ретельному відділенні екстракту від сировини. Повторна мацерація декількома меншими порціями свіжого розчинника дає краще витяг, ніж мацерація в один прийом усією кількістю розчинника. При перколяції - противоточної екстракції - в наукових лабораторіях використовують перколятори і екстрактори. Найбільш часто застосовують екстрактор Сокслета, за допомогою якого можна проводити безперервну екстракцію протягом декількох діб [58].

Для виділення БАР з рослинної сировини використовують весь спектр методів екстракції. Як правило, першим етапом при передпідготовці сировини до екстракції БАР є видалення ліпідів. Найчастіше для цих цілей використовують нейтральні розчинники, спирти та їх суміші. Одночасно з ліпідами при обробці надземної частини рослини, багаті хлорофілом, видаляють більшу частину зелених і жовтих пігментів, що значно полегшує подальше виділення шуканих сполук.

Відомо, що багато ліпіди є найважливішими біологічними ефекторами, регуляторами і медіаторами, які беруть участь практично у всіх фізіологічних процесах. Тому увагу до ліпідів лікарських та інших корисних рослин, їх функцій і біологічними властивостями останнім часом зростає [57].

Виділення індивідуальних ліпідів з вихідного матеріалу зазвичай включає кілька етапів. Першим етапом є руйнування тканини шляхом подрібнення сухої сировини, наступним - екстракція нейтральних ліпідів, потім екстракція суми фосфо і гліколипидов з подальшим фракціонуванням і виділенням чистих речовин. Повноту вилучення ліпідів забезпечує максимальне роздрібнення матеріалу. Полярні розчинники, такі, як метанол і етанол, які руйнують водневі зв'язки і послаблюють електростатичне взаємодія ліпідів з білками, найбільш ефективно екстрагують ліпіди. Використання спиртів для екстракції фосфоліпідів зручно і тим, що вони дезактивують більшість ліполітичних ферментів, які в активній формі викликають деградацію ліпідів. Тривалість екстракції і повноту екстрагування, а також спосіб і умови проведення екстракції визначають в кожному конкретному випадку.

На практиці для виділення ліпідів найчастіше використовують два основних рутинних методу екстракції, що дозволяють кількісно витягати ліпіди практично всіх класів з самої тканини і її фракцій. Найбільш поширеним є метод Фолча, згідно з яким екстракцію проводять сумішню хлороформ-метанол (2: 1) з розрахунку 20 частин екстрагуючої суміші на одну частину тканини. Цей метод дозволяє отримати досить високий вихід нейтральних ліпідів, діацилгліцерофосфоліпідів і сфинголипидов. Лізофосфоліпіди переходять в розчин лише частково, а більш полярні кислі ліпіди можуть губитися при промиванні екстракту розчинами солей і водою. Однак при повторних екстракціях і обмеження промивок вихід ліпідів можна підвищити до кількісного. Інший метод запропонований Блай і Дайер, коли екстракцію ліпідів здійснюють сумішню хлороформ-метанол (1: 1) з розрахунку дві частини суміші на одну частину тканини. Однак і в цьому випадку при промиванні водою найбільш полярні кислі фосфоліпіди і лізофосфоліпіди переходять у водну фазу і губляться. Залежно від хімічної природи ліпідів використовують модифіковані методи вилучення. Замінивши суміш хлороформ-метанол на суміш хлороформ-2% -

ний розчин оцтової кислоти в метанолі, можна підвищити вихід полярних ліпідів. (4: 2: 3) [58].

При екстракції нейтральних і загальних ліпідів часто використовують неполярні розчинники, такі, як хлороформ, гексан, діетиловий ефір. Природно, що при цьому втрачається велика кількість полярних ліпідів. При виділенні нейтральних ліпідів з насіння лікарських рослин, в тому числі з "маралів кореня" (*Rharrhonicum carthamooides*), використовували гексан [3]. При цьому було отримано високий вихід (20%) загальних ліпідів (ОЛ), який можна порівняти з виходом рослинних маслів (соняшникове, макове) [58].

3.4. Висновки до розділу

Отже, спіруліна одна із перспективних сировинних ресурсів. Біомаса мікроводорості містить повноцінний білок - до 60% , поліненасичені жирні кислоти, вітаміни групи В, β -каротин, мікроелементи і т.д. Найбільш ефективно можна використовувати цей природний комплекс у формі екстрактів. Досліджено, що зміна часу екстракції від 0,25 до 4 годин впливає на вихід білка з спіруліни. При збільшенні часу екстракції від 0,25 до 3 год концентрація білка водному екстракті зростала.

Автори експериментально встановили, що при витриманні екстракту спіруліни протягом 72 годин при температурі 5-7 ° С утворюється каротиноїдний комплекс, який легко виділити без хроматографічних методів. Основні пігменти комплексу міксоксантофіл та осцилаксантин - мають високу протипухлинну активність.

ВИСНОВКИ

1. Спіруліна платенсіс (*Spirulina platensis*) - це багатоклітинна спіральна нитчаста мікроводорість. Клітинна стінка спіруліни складається з чотирьох шарів. Спіруліна містить повний набір всіх незамінних амінокислот, а також більше 2000 ферментів в мікродозах. Також спіруліна багато на вітаміни та мінерали.

2. Отримання спіруліни у відкритих бачейнах в теплицях складається з таких етапів виробництва біомаси та її накопичення: підготовча стадія; запуск виробництва; збір врожаю; підживлення; промивання біомаси; сушка біомаси; зберігання біомаси. Проаналізувавши такий метод виробництва з'ясували, що метод культивування у відкритих басейнах є економічно вигідним, так як має найменші фінансові затрати на виробництво, але не ефективним, тому що передбачає малий вихід продукту. Але метод культивування спіруліни у закритих фітореакторах є економічно не вигідним тому, що використовується дорожа установка для отримання продукту. Але вихід біомаси збільшується у декілька разів. Продукція із водорості спіруліни проходить контрольна на відсутність мутаційних штамів, що не виробляються самою спіруліною, але можуть виникати в результаті забруднення партій спіруліни іншими видами синьо-зелених водоростей, які продукують токсини та біохімічний контроль.

3. Спіруліна одна із перспективних сировинних ресурсів. Біомаса мікроводорості містить повноцінний білок - до 60%, поліненасичені жирні кислоти, вітаміни групи В, β -каротин, мікроелементи і т.д. Найбільш ефективно можна використовувати цей природний комплекс у формі екстрактів. Досліджено, що зміна часу екстракції від 0,25 до 4 годин впливає на вихід білка з спіруліни. При збільшенні часу екстракції від 0,25 до 3 год концентрація білка в одному екстракті зростала. Автори експериментально встановили, що при витриманні екстракту спіруліни протягом 72 годин при температурі 5-7 °С утворюється каротиноїди, які легко виділити без хроматографічних методів. Основні пігменти комплексу міксоксантофіл та осцилаксантин - мають високу протипухлинну активність.

СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Henrikson R. Earth food Spirulina How this remarkable blue-green algae can transform your health and our planet. — California: Ronore Enterprises, 1989. — 170 p.
2. Шнюкова Е.І. Матеріали наук. — практ. конф. «Перспективи спіруліни в біотехнологіях харчування і фармакології» / Шнюкова Е.І., Мушак П.А., Тупик Н.Д.// Вінниця: Вид-во Освіта, 1997. — С. 15 – 16.
3. Купраш Л.П. Національний конгрес геронтологів та геріатрів України: Тези доп./ Купраш Л.П., Пантелеймонова Т.М., Шарабура Л.Б.// Київ, 1994. — Ч. II. — 369 с.
4. Михальченко В.Г., Проблемы питания детей в условиях загрязнения среды радионуклидами./ Михальченко В.Г., Лосева Л.П. //— Минск: Полымя,1993. — 105 с.
5. Трушина Э.Н. Влияние спирулины и селенспирулины на показатели иммунного ответа у крыс /Трушина Э.Н., Гладких О.Л., Кравченко Л.В., Гаджиева З.М. и др. // Вопр. Питания. —2007, №2. — С.21 – 25
6. Кравченко Л.В. Сравнительное озучение антиоксидантных свойств фикоцианина и селенфикоцианина в модельных системах окисления / Кравченко Л.В., Гладких О.Л., Гмошинский И.В. // Материалы IX Международного Съезда ФИТОФАРМ 2005. — С. — Петербург, 2005. — 161 С.
7. Гладких О.Л. Изучение биологической активности микроводоросли спирулины и ее компонентов //Материалы I Всероссийского съезда диетологов и нут-рициологов «Диетология: проблемы и горизонты». Москва. — 2006. — 28 С.
8. Wiegand C. Ecotoxicological effects of selected cyanobacterial secondary 21 metabolites a short review / Wiegand C., Pflugmacher S.//Toxicol. Appl. Pharmacol. — 2005. — Vol. 203. — P. 201 – 218.
9. Figueiredo D.R. Microcystin-producing blooms – a serious global public ealth issue / Figueiredo D.R., Azeiteiro U.M., Esteves S.M., Goncalves F.J.M., Pereira M.J.

//Ecotoxicol. Environ. Saf. — 2004. — Vol. 59. — P.151— 163.

10. Schopf J.W. The fossil record: tracing the roots of the cyanobacterial lineage. In The ecology of cyanobacteria Edited by: Whitton B.A., Potts M. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. — 2000, №5. — P.13 — 35.

11. Lopes Pinto F.A. A brief look at three decades of research on cyanobacterial hydrogen evolution. // Lopes Pinto F.A., Troshina O., Lindblad P. // International Journal of Hydrogen Energy. — 2002. — Vol.27. — P.1209 — 1215.

12. Antal T.K. Production of H₂ by sulphur-deprived cells of the unicellular cyanobacteria *Gloeocapsa alpicola* and *Synechocystis* sp. PCC 6803 during dark incubation with methane or at various extracellular pH / Antal T.K., Lindblad P.// Journal of Applied Microbiology. — 2005. — Vol. 98. — P.114 — 120.

13. Aoyama K. Fermentative Metabolism to Produce Hydrogen Gas and Organic Compounds in a Cyanobacterium, *Spirulina platensis* / Aoyama K., Uemura I., Miyake J., Asada Y. // J. Fermentation and Bioengineering. — 1997. — Vol. 83. — P.17 — 20.

14. Datta M. Cyanobacterial hydrogen production / Datta M., Nikki G., Shah V. // World Journal of Microbiology and Biotechnology. — 2000. — Vol.16. — P.8 — 9.

15. Бекер М.Е., Биотехнология. / Бекер М.Е., Лиепиньш Г.К., Райпулис Е.П.// М.: Агропромиздат, 2013. — 334 с.

16. Биотехнология: Учебник/ И.В.Тихонов, Е.А.Рубин, Т.Н.Грязнева и др.; Под ред. Е.С.Воронина. – ГИОРД, 2013. — 704с.

17. Грандберг, И.И. Органическая химия: Учебник для бакалавров / И.И. Грандберг, Н.Л. Нам. — М.: Юрайт, 2013. — 608 с.

18. Грачева И.М. Технология ферментных препаратов. — М.: Изд-во «Элевар», 2012. — 512 с.

19. Захарова, Т.Н. Органическая химия: Учебник для студ. учреждений сред. проф.образования /Т.Н. Захарова, Н.А. Головлева. —М.: ИЦ Академия,2012. — 400 с.

20. Клячко Н.Л. Ферменты - биологические катализаторы: основные принципы действия // Соросовский образовательный журнал. — 2012, № 3. — С. 58 — 63.

21. Ливанцов, М.В. Органическая химия. Задачи по общему курсу с решениями. В 2-х т.Т. 1. Органическая химия. Задачи по общему курсу с решениями.

Часть 1: Учебное пособие / М.В. Ливанцов. — М.: БИНОМ. ЛЗ, 2012. — 255 с.

22. Мембраностабилизирующее действие Спирулины в условиях острого токсического повреждения печени тетрахлоридом этанола. // Совр. Проблемы токсикологии. / Литвинова Н.В., Марченко А.Н. и др. // 2014, №2. — 40 — 46 с.

23. Петров, А.А. Органическая химия: Учебник для вузов / А.А. Петров, Х.В. Бальян, А.Т. Трощенко; Под ред. М.Д. Стадничук. // М.: Изд. Альянс, 2012. — 624 с.

24. Рогов И.А., Пищевая биотехнология. / Рогов И.А., Антипова Г.П., Шуваева Г.П. // М.: КолосС, 2014. — 440с.

25. Ступина Л.С. Гепатопротекторные свойства Спирулины по данным морфологии. — в кн. // Материалы IV международной конференции «Спирулина — фармакологические свойства и применение»/Киев, 2012. — с.30.

26. Тарова З.Н. Ферментные препараты, получение, применение. — Мичуринск — Научград, 2014. — 156с.

27. Титце Л. Препаративная органическая химия: Реакции и синтезы в практикуме органической химии и научно-исследовательской лаборатории / Л. Титце. — М.: Мир, 2013. — 704 с.

28. Тренкеншу Р.П. Технологическая инструкция. — ТОО "АГРО-ВИКТОРИЯ" г. Сочи, 2012. — 16с.

29. Чернов Н.Н. Ферменты в клетке и пробирке // Соросовский образовательный журнал. — 2012, № 5. — С. 28— 34.

30. Хмелевский М.И. «Спирулина покоряет диабет». Сочи: «Новые технологии, 2012. — 96 с.

31. Банный И. П., Фармакогностический анализ лекарственного растительного сырья. / Банный И. П., Литвиненко М. М., Евтифеева О. А., Сербин А. Г. // Х. : Изд-во НФАУ, 2002. — 88 с.

32. Ботанико-фармакогностический словарь / Под ред. К. Ф. Блиновой, Г. П. Яковлевой. — М. : Высш. шк., 1990. — 272 с.

33. Войткевич С. А. Эфирные масла, ароматизаторы, консерванты. — М. : Пищевая промышленность, 2000. — 96 с.

34. Войткевич С. А. Эфирные масла для парфюмерии и ароматерапии. —

М. : Пищевая промышленность, 1999. – 105 с.

35. Горяев М. И. Методы исследования эфирных масел./Горяев М. И., Плива И. //Алма-Ата : ЛН. КазССР, 1962. – 752 с.

36. Гудвин Т. Введение в биохимию растений./ Гудвин Т., Мерсер З.// В 2 т. – М. : Мир, 1985. – Т. 1. – 318 с., Т. 2. – 320 с.

37. Лікарські рослини : Енциклопед. довідник / За ред. А. М. Гродзінського. – К. : Укр. енциклопедія, 1992. – 543 с.

38. Муравьева Д. А. Тропические и субтропические лекарственные растения. – М. : Медицина, 1997. – 384 с.

39. Муравьева Д. А. Фармакогнозия./Муравьева Д. А., Самыкина И. А., Яковлев Г. П. // М. : Медицина, 2002. – 656 с.

40. Основы практической аромологии: Учеб. пособие для студентов фармац. вузов и фармац. фак-тов мед. ин-тов / О. Г. Бахура, С. М. Глушко, И. И. Баранова и др.// Х. : Прапор, 1999. – 160 с.

41. Практическое руководство по косметологии и аромологии / О. Г. Вахура, В. Ф. Черных, С. М. Глушко и др.// Х. : Прапор, 1999. – 352 с.

42. Растительные лекарственные средства / Максютин Н. П., Комиссаренко Н. Ф., Прокопенко А. П. и др.// К. : Здоровье, 1985. – 280 с.

43. Соколов С. Я. Справочник по лекарственным растениям (Фитотерапия)./ Соколов С. Я., Замотаев И. П. // М. : Медицина, 1984. – 446 с.

44. Справочник по заготовкам лекарственных растений /Ивашин Д. С., Катина З. Ф., Рыбачук И. З. и др.// К. : Урожай, 1989. – 288 с.

45. Дем'яненко Д.В. Вивчення технологічних властивостей суцвіть липи серцелистої / Д.В. Дем'яненко, С.В. Бреусова, В.Г. Дем'яненко // Вісник фармації. – 2009, №3. – С. 41– 45.

46. Бондаренко А.С. Дослідження технологічних параметрів лікарської рослинної сировини при створенні сиропу для лікування застудних захворювань / Д.В. Дем'яненко, Є.В. Гладух, О.М. Котенко//Вісник фармації. – 2011, №3. – С.17–19.

47. Попова Т.П. Деякі загальні закономірності екстрагування діючих речовин з лікарської сировини. Залежність ефективності екстракції від технологічних

властивостей та параметрів шару рослинної сировини / Т.П. Попова, В.І. Литвиненко // Фармацевтичний журнал. – 1995, №4. – С. 75–77.

48. Чижова Е.Т. О коэффициентах водопоглощения лекарственного растительного сырья / Е.Т. Чижова, Г.В. Михайлова // Фармация. – 2001, №1. – С. 35–37.

49. Плюснин А.Н. Кинетика набухания лекарственного сырья растительного происхождения. Набухание горечавки крупнолистной в воде и водно-спиртовой смеси/ А.Н. Плюснин, Л.А. Тихонова // Хим.-фармац. журн. – 1996, №2. – С. 39–41.

50. Жехжах Самер. Разработка технологии липофильного фитокомплекса противовоспалительного действия и суппозиторий на его основе: дис. канд. фармацевт. наук / Жехжах Самер. – Х., 2007. – 170 с.

51. Хамам Салих Бодри Хамам. Разработка состава и технологии препарата на основе масла расторопши пятнистой. – Хамам. – Х., 2004. – 58 с.

52. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.

53. Кочетков Н.К. Химия природных соединений./ Кочетков Н.К., Торгов И.В., Ботвиник М.М.// М.: Изд. АН СССР, 1960. – 560 с.

54. Муравьева Д.А. Фармакогнозия: Учебник / Муравьева Д.А., Самылина И.А., Яковлев Г.П. // 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2002. – 656 с.

55. Яковлев Г.П. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения. Фармакогнозия: учебное пособие./ Яковлев Г.П., Белодубровская Т.А., Березина В.С. // СПб.: СпецЛит, 2006. – 848 с.

56. Солдатенков А.Т. Основы органической химии лекарственных веществ./Солдатенков А.Т., Колядина М.Н., Шендрик И.В. // М.: Мир. – 2003. – 192 с.

57. Беликов В.Г. Синтетические и природные лекарственные средства. Краткий справочник. – М.: Высшая школа. – 2001. – 720 с.

58. Балицкий К.П. Лекарственные растения и рак./ Балицкий К.П., Воронцова А.Л.// Киев: Наук. Думка. – 1982. – 376 с.