

**UNIVERSITATEA “VASILE ALECSANDRI” DIN BACĂU  
FACULTATEA DE INGINERIE**

**NISTOR Ileana Denisa – coordonator**

**GEORGESCU Ana-Maria      URSU Alina-Violeta**

***BIOTEHNOLOGII INDUSTRIALE  
- ÎNDRUMAR DE LABORATOR -***

***\* Pentru uzul studenților***

**Editura ALMA MATER  
Bacău 2015**

## CUPRINS

<b>1. NORMELE DE PROTECȚIE A MUNCII, DE PREVENIRE A INCENDIILOR ȘI MĂSURI DE PRIM AJUTOR ÎN LABORATORUL DE BIOTEHNOLOGII INDUSTRIALE</b>	<b>11</b>
1.1. Organizarea și dotarea laboratorului de <i>Biotehнологii industriale</i>	11
1.2. Norme de protecție și prevenire a accidentelor și măsuri de prim ajutor	12
1.2.1. Intoxicațiile	12
1.2.2. Arsurile	13
1.2.3. Traumatismele	15
1.2.4. Electrocutările	15
1.3. Recomandări pentru studenții care efectuează lucrări practice în laboratorul de <i>Biotehнологii industriale</i>	16
<b>2. METODE GENERALE DE ANALIZĂ ÎN LABORATORUL DE BIOTEHNOLOGII INDUSTRIALE ȘI TEHNOLOGIE FARMACEUTICĂ</b>	<b>18</b>
2.1. Recoltarea probelor pentru analiză	18
2.2. Cântărirea	19
2.2.1. Manipularea pipetei Lunge-Rey	19
2.2.2. Vase de măsurat	21
2.3. Determinarea solubilității substanțelor	21
2.4. Determinarea transparenței lichidelor	22
2.5. Determinarea colorației lichidelor	23
2.6. Determinarea densității (greutatea specifică relativă)	25
2.6.1. Determinarea densității unui lichid cu picnometrul	25
2.6.2. Determinarea densității unui lichid cu balanța Mohr-Westphal	25
2.6.3. Determinarea densității lichidelor cu densimetrul	27
2.6.4. Determinarea densității la grăsimile solide și la ceară	28
2.7. Determinarea punctului de fierbere	28

2.8.	Determinarea intervalului de distilare	29
2.9.	Determinarea punctului de picurare	31
2.10	Determinarea punctului de topire	32
2.10.1.	Determinarea punctului de topire la substanțe solide pulverizabile	33
2.10.2.	Determinarea punctului de topire la grăsimi, ceară, rășini și produse similare	34
2.11.	Determinarea punctului de solidificare	35
2.12.	Determinarea punctului de congelare și de topire la uleiuri	36
2.13.	Determinarea indicelui de refracție	36
2.14.	Determinarea puterii rotatorii specifice	37
2.15.	Determinarea vâscozității lichidelor	39
2.15.1.	Determinarea vâscozității convenționale Engler	40
2.15.2.	Determinarea vâscozității relative a lichidelor cu vâscozimetrul capilar Ostwald	42
2.16.	Determinarea pH-ului soluțiilor	43
2.17.	Determinarea conținutului de substanță uscată prin cântărire	47
2.18.	Analize specifice laboratorului de biotehnologii industriale	48
2.18.1.	Controlul microbiologic al amprentei operatorului	49
2.18.2.	Utilizarea microscopului optic în laboratorul de biotehnologii industriale	50
2.18.3.	Studiul morfologiei bacteriilor cu ajutorul microscopului	52
2.18.4.	Determinarea dimensiunii bacteriilor cu ajutorul micrometrului	54
2.19.	Determinarea indicilor specifici compușilor lipidici	55
2.20.	Determinarea limitelor pentru impurități	63
<b>3.</b>	<b>PREPARAREA MEDIILOR DE CULTURĂ ÎN BIOTEHNOLOGII</b>	<b>64</b>
3.1.	Generalități	64
3.2.	Exemple de medii de cultură utilizate în biotehnologii	66
3.2.1.	Medii de cultură pentru testarea <i>in vitro</i>	66
3.2.2.	Medii de cultură pentru obținerea inoculului	66
3.2.3.	Medii de cultură industriale	66
3.2.4.	Rețete de fabricație a mediilor de cultură utilizate în biotehnologii	68
<b>4.</b>	<b>METODE DE STERILIZARE UTILIZATE IN BIOTEHNOLOGII</b>	<b>70</b>
4.1.	Introducere	70
4.2.	Sterilizarea prin metode fizice	71
4.2.1.	Metode de sterilizare prin căldură	71
4.2.1.1.	Sterilizare prin căldură uscată	71

4.2.1.2.	Sterilizarea prin căldură umedă	73
4.2.2.	Metode de sterilizare prin radiații	77
4.2.3.	Sterilizarea cu ultrasunete	77
4.3.	Sterilizarea prin metode chimice	77
4.3.1.	Dezinfecția	77
4.3.2.	Utilizarea substanțelor antiseptice	78
4.4.	Sterilizarea prin metode mecanice	79
4.5.	Sterilizarea în biosinteză	79
4.5.1.	Sterilizarea mediilor de cultură	80
4.5.1.1.	Sterilizarea discontinuă a mediilor de cultură	80
4.5.1.2.	Sterilizarea continuă a mediilor de cultură	80
4.5.2.	Sterilizarea aerului	81
4.5.3.	Sterilizarea liniei tehnologice în procesele de fermentare	81
4.6.	Metode utilizate pentru controlul sterilității în biotehnologii și în tehnologia farmaceutică și cosmetică	81
4.6.1.	Controlul sterilității preparatelor injectabile și perfuzabile	85
4.6.2.	Controlul sterilității preparatelor oftalmice și al altor preparate farmaceutice neinjectabile	86
4.6.3.	Controlul sterilității pentru mase mari de produse solide	87
<b>5.</b>	<b>ANALIZA CURBEI DE CREȘTERE A MICROORGANISMELOR</b>	<b>89</b>
5.1.	Introducere	89
5.2.	Analiza curbei de creștere a drojdiei <i>Saacharomyces cerevisiae</i> în cultură discontinuă asincronă	90
<b>6.</b>	<b>EXTRACȚIA ȘI SEPARAREA DE BIOMOLECULE CU INTERES NUTRIȚIONAL ȘI TERAPEUTIC DIN BIOMASĂ</b>	<b>92</b>
6.1.	Introducere	92
6.2.	Extracția de proteine din biomasă algală	93
6.3.	Extracția de ficocianină cu potențial antioxidant și antiinflamator din biomasa bacteriană	94
<b>7.</b>	<b>METODE DE SEPARARE ȘI PURIFICARE UTILIZATE ÎN PRODUCȚIA DE ANTIBIOTICE</b>	<b>96</b>
7.1.	Utilizarea extracției fizice pentru separarea penicilinei G și V	97
7.2.	Studiul stabilității chimice a penicilinelor G și V	99
7.3.	Utilizarea extracției chimice pentru separarea eritromicinei	103
7.4.	Utilizarea metodei de adsorbție pe schimbători de ioni pentru separarea streptomicinei	105
7.4.1.	Separarea streptomicinei în coloane cu strat fix de schimbători de ioni	108
7.5.	Purificarea tetraciclinei din baza brută	110

<b>8. UTILIZAREA FILTRĂRII MEMBRANARE IN BIOTEHNOLOGII. CONCENTRAREA SOLUȚIILOR DE (BIO)POLIMERI PRIN ULTRAFILTRARE</b>	<b>112</b>
8.1. Filtrarea membranară în biotehnologii	112
8.2. Concentrarea unei soluții de bleu dextran prin ultrafiltrare	113
<b>9. METODE SPECIALE ȘI TEHNICI UTILIZATE ÎN INDUSTRIA FARMACEUTICĂ ȘI COSMETICĂ</b>	<b>116</b>
9.1. Analiza materiilor prime din industria farmaceutică și cosmetică	116
9.1.1. Identificarea și caracterizarea produselor vegetale (biomasă)	117
9.1.1.1. Examenul macroscopic	117
9.1.1.2. Examenul microscopic	119
9.1.1.3. Examenul chimic	123
9.1.1.4. Analiza chimică calitativă a produselor vegetale	126
9.1.1.4.1. Examenul chimic calitativ al compușilor extrași cu solvenți	126
9.1.1.5. Analiza cromatografică	140
9.1.1.5.1. Cromatografia pe coloană (CC)	140
9.1.1.5.2. Cromatografia pe hârtie (CH)	142
9.1.1.5.3. Cromatografia pe strat subțire (CSS)	143
9.1.1.5.4. Cromatografia în fază gazoasă (CG)	145
9.1.2. Determinarea purității produselor vegetale (biomasă)	146
9.1.2.1. Determinarea impurităților	146
9.1.2.2. Determinarea corpurilor străine	146
9.1.3. Determinarea calității produselor vegetale (biomasă)	147
9.1.3.1. Determinări preliminare	147
9.1.3.1.1. Determinarea umidității	147
9.1.3.1.2. Determinarea cenușei	149
9.1.3.1.3. Determinarea extractibilului	149
9.2. Prepararea extractelor și unguentelor de uz farmaceutic și cosmetic	150
9.2.1. Prepararea extractelor de uz farmaceutic	150
9.2.1.1. Soluții preparate prin extracție (extracte)	150
9.2.1.1.1. Compoziția chimică a produselor vegetale utilizate pentru obținerea extractelor farmaceutice și cosmetice	151
9.2.1.1.2. Factori care influențează extracția	153
9.2.1.1.3. Caracteristici generale ale extractelor de uz farmaceutic	159

9.2.1.1.4.	Exemple de soluții apoase	160
9.2.1.1.5.	Exemple de soluții alcoolice (tincturi și extracte)	162
9.2.1.2.	Prepararea extractelor farmaceutice cu rol energizant și hipotensor	165
9.2.2.	Prepararea unguentelor de uz farmaceutic și cosmetic	167
9.2.2.1.	Prepararea unguentelor	167
9.2.2.2.	Exemple de baze de unguente	170
9.2.2.3.	Exemple de unguente de uz farmaceutic și cosmetic	174
9.3.	Caracterizarea produselor farmaceutice finite provenite din diferite tehnologii și biotehnologii	181
9.3.1.	Determinarea sulfatului de magneziu pentru uz farmaceutic	181
9.3.1.1.	Determinări calitative ale sulfatului de magneziu	181
9.3.1.2.	Determinarea cantitativă a sulfatului de magneziu	183
9.3.1.3.	Determinarea sulfatului de magneziu anhidru ( <i>magnesium sulfuricum siccatum</i> )	183
9.3.2.	Determinarea codeinei	183
9.3.2.1.	Identificarea codeinei	184
9.3.2.2.	Determinarea cantitativă a codeinei	185
9.3.3.	Determinarea cafeinei	185
9.3.3.1.	Identificarea cafeinei	185
9.3.3.2.	Extracția cafeinei din frunzele de ceai	186
9.3.4.	Determinarea acidului salicilic	188
9.3.4.1.	Identificarea acidului salicilic	188
9.3.4.2.	Dozarea acidului salicilic	189
9.3.5.	Identificarea și dozarea vitaminei B <sub>3</sub> (vitamina PP)	190
9.3.5.1.	Identificarea vitaminei B <sub>3</sub>	192
9.3.5.2.	Dozarea vitaminei B <sub>3</sub>	193
9.3.5.3.	Determinarea conținutului de vitamină B <sub>3</sub> din făina de soia prin metoda microbiologică	194
9.3.6.	Identificarea și dozarea vitaminei B <sub>6</sub> (piridoxina)	195
9.3.6.1.	Identificarea vitaminei B <sub>6</sub>	196
9.3.6.2.	Dozarea vitaminei B <sub>6</sub>	197
9.3.7.	Identificarea și dozarea vitaminei B <sub>9</sub> (acidul folic)	198
9.3.7.1.	Identificarea vitaminei B <sub>9</sub>	199
9.3.7.2.	Dozarea vitaminei B <sub>9</sub>	200

9.3.7.3.	Determinarea conținutului de vitamină B <sub>9</sub> din miez de nucă de cocos prin metoda microbiologică	200
9.3.8.	Identificarea și dozarea vitaminei B <sub>12</sub> (cianocobalamina)	202
9.3.8.1.	Identificarea vitaminei B <sub>12</sub>	204
9.3.8.2.	Dozarea vitaminei B <sub>12</sub>	204
9.3.9.	Identificarea și dozarea vitaminei C	205
9.3.9.1.	Identificarea vitaminei C	208
9.3.9.2.	Dozarea vitaminei C	208
9.3.9.3.	Determinarea conținutului de vitamină C din biomasă	209
9.3.9.4.	Determinarea conținutului de vitamina C în sucul de citrice	210
9.3.10.	Analiza preparatelor farmaceutice obținute prin extracție	212
9.3.10.1.	Determinarea caracterelor organoleptice	213
9.3.10.2.	Determinarea calitativă a unor compuși din extractele farmaceutice	215
9.3.10.3.	Utilizarea metodelor cromatografice pentru analiza extractelor farmaceutice	220
9.3.10.4.	Determinări cantitative ale preparatelor obținute prin extracție	221
9.3.11.	Analiza unguentelor de uz farmaceutic și cosmetic	223
9.3.11.1.	Determinarea consistenței unguentelor	224
9.3.11.2.	Controlul capacității bazelor de unguente de a absorbi apa (indicele de apă)	225
9.3.11.3.	Analiza unguentului simplu	225
9.3.11.4.	Analiza unguentului emulgator	226
9.3.11.5.	Analiza unguentului cu glicerină	226
	<b>Bibliografie</b>	229