УДК 615.281.9:687.552:553.973

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ МИЛА З САПРОПЕЛЕМ

Струс О.Є., Стрілець О.П.*, Половко Н.П.*

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

***Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна**

Вступ. У рецептурах твердих туалетних мил широко використовуються речовини синтетичного походження, так як вони сприяють стабілізації нормативних показників якості (масова частка жирних кислот, масова частка содопродуктів тощо). Проте використання синтетичних добавок та наявність ряду інших несприятливих факторів у житті людини (ліки, навколишнє середовище, харчові добавки та консерванти) провокують виникнення алергічних, онкологічних та інших захворювань шкіри [1]. Тому актуальним завданням є розробка органічних мил, які містять речовини природного походження. Такою речовиною є сапропель, донні відклади прісноводних озер, запаси яких в Україні складають понад 70 млн. т.[2] Сапропелі володіють протизапальною та ранозагоюючою активністю [3], містять широкий спектр біологічно активних речовин [1].

Нами розроблено тверде туалетне мило з лікувально-профілактичною добавкою - сапропелем, яке отримували холодним методом. Для розрахунку кількостей олій, пережирюючої добавки та лугу для омилення жирів використали електронний калькулятор лугу (доступний на більшості сайтів, присвячених миловарінню) та розрахунок вручну (із використанням чисел омилення всіх компонентів жирової фази). Два методи розрахунків дають результати, що відрізняються між собою на 0,3%, що не впливає на якість і характеристики готового мила, але доцільніше використовувати метод розрахунків вручну, коли для кожної отриманої партії сировини точні значення чисел омилення наведені у відповідних сертифікатах якості.

Готували зразки, до складу яких входили пальмове та кокосове масла, кукурудзяна, рицинова та арганова олія в якості пережирюючої речовини за наступною технологією: відважували розраховану кількість пальмового та кокосового масла, кукурудзяної та рицинової олій та розтоплювали на водяній бані. У льодяній воді розчиняли луг (NaOH). Змішували розплав олій та водний розчин лугу при температурі 40-60 С за допомогою гомогенізатора. До отриманої суміші додавали арганову олію, запашник та сапропель у кількості 5 та 10 %. Розливали у форми та залишали на добу у теплому місці. Виймали з форми та залишали на 4 тижні для дозрівання. Досліджували антимікробну активність розроблених зразків.

Мета дослідження. Визначення антимікробної активності дослідних зразків мила, що містить 5 та 10 % сапропелю.

Методи дослідження. Протимікробну активність дослідних зразків мила вивчали in vitro методом дифузії в агар (метод «колодязів») [4,5]. Цей метод ґрунтується на здатності активнодіючих речовин дифундувати в агарове

середовище, яке попередньо інокульовано культурами мікроорганізмів. Результати досліджень дозволяють характеризувати як антимікробну активність засобу, так і вивільнення антибактеріальних речовин з основи, оскільки зони затримки росту мікроорганізмів утворюються внаслідок дифузії цих речовин в щільне живильне середовище.

В якості тест-культур використовували чисті культури з Американської колекції культур (АТСС): грампозитивні мікроорганізми *Staphylococcus aureus* АТСС 25293, спорову культуру *Bacillus subtilis* АТСС 6633, грамнегативну культуру *Escherichia coli* АТСС 25922. Антифунгальну дію з'ясовували відносно дріжжеподібного грибу роду Candida - *Candida albicans* АТСС 885-653 [1,2]. При проведені дослідів використовували однодобові суспензії бактеріальних мікроорганізмів у фізіологічному розчині, та дводобову культуру дріжджеподібного гриба. Мікробне навантаження складало 10^7 колоніеутворюючих одиниць мікроорганізмів в 1 мл поживного середовища (КУО/мл).

До чашок Петрі, які встановлені на горизонтальній поверхні, вносили по 10 мл розтопленого «голодного» агару. Після застигання даного нижнього шару агару на його поверхні на рівній відстані один від одного та від краю чашки розміщали 3-6 стерильних сталевих тонкостінних циліндрів (діаметр – 8,0±0,1мм, висота – 10,0±0,1 мм). Навколо циліндрів заливали верхній шар, що складався з 14 мл розтопленого та охолодженого до 45–48 ºС агару, змішаного з посівною дозою тест-мікроорганізму. При роботі з бактеріальними культурами для другого шару використовували м'ясо-пептонний агар (МПА), при роботі з дріжджеподібним грибом – агар Сабуро). Після охолодження верхнього шару циліндри виймали стерильним пінцетом і в отримані лунки вносили досліджувані зразки мила до повного їх заповнення. Чашки Петрі підсушували 30-40 хвилин при кімнатній температурі та поміщали в термостат – бактеріальні культури при температурі 32,5±2,5 ºС на 18-24 години, культуру дріжжеподібного гриба при 22,5±2,5 ºС на 48 годин.

Для проведення аналізу проводили підготовку зразків мила. Для цього готували розчин мила 5% і 10%.

Облік результатів проводили шляхом вимірювання зони пригнічення росту мікроорганізмів, включаючи діаметр лунок. Вимірювання проводили з точністю до 1 мм, при цьому орієнтувались на повну відсутність видимого росту. Діаметр зони затримки росту мікроорганізмів характеризував антимікробну активність експериментальних зразків:

- відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, та зону діаметром до 10 мм, оцінювали як нечутливість мікроорганізмів до зразка;
- зони діаметром 11-15 мм оцінювали як помірну чутливість культури до концентрації діючої протимікробної речовини, що досліджувалась;
- зони затримки росту діаметром 15-25 мм – чутливий штам мікроорганізму до досліджуваного зразка;
- зони затримки росту, діаметр яких перевищував 25 мм, свідчить про високу чутливість мікроорганізмів до досліджуваного зразка.

Основні результати. В результаті проведених досліджень по вивченню протимікробних властивостей зразків мила по відношенню до різних культур мікроорганізмів отримані результати, свідчать проте, що досліджені зразки мила володіють антимікробною активністю по відношенню до всіх використаних мікроорганізмів в таблиці.

Таблиця

Антимікробна активність експериментальних зразків мила

Зразок	Культури мікроорганізмів			
	S. aureus	*B. subtilis*	*E. coli*	*C. albicans*
	Діаметри зони затримки росту мікроорганізмів, мм			
№1 – 5%	22,2±0,4	26,4±0,5	22,6±0,5	25,2±0,4
№2 – 10%	26,4±0,5	29,6±0,5	24,8±0,4	26,8±0,4

Примітка: n=5

Слід зазначити, що бактеріальні штами, а саме грампозитивні культури *Staphylococcus aureus і Bacillus subtilis,* грамнегативна культура *Escherichia coli* є чутливими до зразків мила як 5% так і 10% (діаметри зони пригнічення росту культур складають від 22,2±0,4 мм до 29,6±0,5 мм). По відношенню до до дріжджеподібного грибу рода кандида - *Candida albicans* досліджувальні зразки мила 5% і 10% проявили антифунгальну активність - діаметри зон пригнічення росту культури складають 25,6±0,4 і 26,8±0,4 мм.

Слід зазначити, що найбільш чутливими до дії зразків мила є культури *Bacillus subtilis і Candida albicans.* Порівнюючи протимікробну активність зразків мила 5% і 10% було встановлено, що зразок 10% проявляє більшу антимікробну активність по відношенню до усіх тест-культур.

Висновки. Експериментально встановлено, що досліджувані зразки мила володіють широким спектром антимікробної діє і є перспективними для подальшої розробки лікувально-косметичного засобу.

Список літератури

1. Захаренко В. О. Оцінка показника якості туалетного мила із витяжками рослинної сировини / Захаренко В. О. Сорокіна С. В., Акмен В. О.// Восточно-Европейский журнал передовых технологий. – 2013. – № 6/10 (66). – С. 28-32.
2. Струс О.Є. Перспективи використання сапропелів у медицині та косметології / О.Є. Струс // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2014.– Т. 9, № 2. – С. 56-62.
3. Дослідження протизапальних та репаративних властивостей екстрактів сапропелю родовища Прибич / О.Є.Струс, Н.П. Половко, Л.М.Малоштан, Е.Ю. Яценко // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика. – Випуск 23. – Книга 4. – Київ. – 2014. – С. 392-398.
4. Волянський Ю.Л., Гриценко І.С., Широбоков В.П. і інш. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Метод. реком. – Київ, 2004. – 38 с.
5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2011. Доповнення 4. – 536 с.