

ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ КОНСЕРВАНТУ ПРИ РОЗРОБЦІ ГЕЛІВ З БОДЯГОЮ

*І.І.Баранова, О.Г.Башура, Т.П.Осолодченко**

Національний фармацевтичний університет

ДУ “Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова АМН України”*

Ключові слова: консервант; гелі з бодягою; антимікробна активність

На підставі мікробіологічних досліджень доведено, що при розробці гелів з бодягою необхідне введення консерванту. Вивчена антимікробна активність зразків гелів з бодягою методом глибокого посіву в агар і поверхневого посіву препаратів на агар. Зразки містили наступні консерванти: бронітрол (бронопол), натрію бензоат, ніпагін, ефірне масло розмарину, а також комплексний сучасний консервант “гермабен II” у різних концентраціях. Дослідження глибокого і поверхневого посіву препаратів на чашках Сабуро показали відсутність росту грибів. Відмічено, що досліджувані зразки гелів відповідають вимогам ДФУ на мікробіологічну чистоту. При перевірці антимікробної активності методом дифузії в агар (метод “колодязів”) доведено, що найбільш ефективним є консервант бронітрол, який був обраний для подальших розробок гелів з бодягою.

На теперішній час відмічається тенденція до використання фармацевтичних і косметичних засобів зовнішньої дії з високим вмістом водної фази (креми о/в, гелі) [10, 13, 14]. Однак дані засоби є сприятливим середовищем для розвитку мікроорганізмів (культури *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *Proteus vulgaris*) або псування готової продукції (культури пліснявих грибів, дріжджоподібні гриби роду *Candida*) [2, 3, 4, 8].

У результаті комплексних досліджень нами було розроблено склад гелів з порошком бодяги (*Spongilla lacustris*). У зв'язку з тим, що бодяга є субстанцією природного походження, обов'язковим було введення консерванту [3, 12, 15].

Відомо, що при виборі консерванту необхідно звертати увагу на терапевтичну дію препарату, ділянку його нанесення, можливість взаємодії з іншими інгредієнтами рецептури, його розчин-

ність, зону активності у необхідному інтервалі рН [3, 10, 15]. На основі проведеного літературного пошуку з метою вибору ефективного консерванту (або їх комбінації), який би гарантував якість і безпечність розроблених гелів з бодягою, нами було вивчено антимікробну активність експериментальних зразків гелів з різними консервантами. Для досліджень було обрано наступні консерванти: бронітрол (бронопол, 2-бром-2-нітропропандіол-1,3), натрію бензоат, ніпагін (метилпарабен, метиловий ефір п-гідроксибензойної кислоти), а також їх комплекси. Також у якості консерванту було обрано комплексний консервант “гермабен II”, до складу якого входить діазолідинілсечовина, метилпарабен, пропілпарабен у пропіленгліколі [3, 5, 6, 9, 10, 11, 14].

Матеріали та методи

При дослідженнях використовували методику оцінки ефектив-

ності антимікробних консервантів, наведену в ДФУ (п. 5.1.3, стор. 301) [7].

Поживні середовища готували відповідно до вимог виробника (Дагестанський завод поживних середовищ). Кожна серія перевірялася на зростання якості згідно з нормативними документами (посів типових тест-штамів мікроорганізмів з урахуванням 24-120 годинного росту відповідного штаму). З метою проведення випробувань зразків гелів на мікробіологічну чистоту використовували тіогліколеве напіврідке середовище, рідке середовище Сабуро, тверді поживні середовища: поживний агар, середовище Сабуро; для ідентифікації патогенного стафілокока, синьогнійної палички і різних видів ентробактерій — середовище Чистовича, кров'яний агар на основі поживного агару з додаванням крові, що дефібринує, або еритроцитарної маси та середовище Ендо. Перед проведенням досліджень на мікробіологічну чистоту проводили випробування на відповідність ростових властивостей поживних середовищ.

Поживні середовища інокулювали невеликою кількістю відпо-

І.І.Баранова — канд. фармац. наук, доцент кафедри косметології і ароматології Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Т.П.Осолодченко — канд. біол. наук, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії біохімії мікроорганізмів поживних середовищ ДУ “Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова АМН України” (м. Харків)

Таблиця 1

Дослідження гелевих зразків на мікробіологічну чистоту

Зразки гелів	Середовища і умови культивування Розведення препаратів у буфері 1:5	
	тіогліколеве середовище 28 днів при 35°C	рідке середовище Сабуро 28 днів при 25°C
№1	Відсутній ріст	Відсутній ріст
№2	— “ —	— “ —
№3	— “ —	— “ —
№4	— “ —	— “ —
№5	— “ —	— “ —
№6	— “ —	— “ —
№7	— “ —	— “ —
№8	— “ —	— “ —
№9	— “ —	— “ —
№10	— “ —	— “ —
№11	Ріст мікроорганізмів	— “ —

відних тест-штамів мікроорганізмів (10^{-6} у розведенні за стандартом Mc-Farland). Облік тест-культури відповідного мікроорганізму на даному середовищі проводили через 18-20 год і підтверджували її придатність для дослідницької роботи. На середовищі Сабуро засівали *C. albicans*, на поживному агарі — *Ps. aeruginosa* і *B. subtilis*, на середовищі Чистовіча — *St. aureus*, на середовищі Ендо — *E. coli*. Тіогліколеве середовище витримували в термостаті при певній температурі [1, 7].

Всі культури мікроорганізмів, які вирощували на випробовуваних середовищах, відповідали таксономічному позначенню штаму, а морфологія колоній при культивуванні на середовищах з морфологією клітин при мікроскопії були типовими. Тіогліколеве середовище відповідало вимогам на стерильність.

З метою перевірки антимікробної активності використовували метод дифузії в агар (метод “колодязів”). Визначення активності зразків гелів проводили на двох шарах щільного поживного середовища, розлитого в чашки Петрі. У нижньому шарі використовували “голодні” не засіяні середовища (агар-агар, вода, солі). Нижній шар є підкладкою заввишки 10 мм, на яку строго горизон-

тально встановлюють 3-6 тонкостінних циліндри з неіржавіючої сталі діаметром 8 мм і заввишки 10 мм. Довкола циліндрів заливають верхній шар, що складається з поживного агарового середовища, розплавленого і охолодженого до 40°C, у яке вносили відповідний стандарт добової культури тест-мікробів. Заздалегідь верхній шар добре перемішували до утворення однорідної маси. Після застигання циліндри стерильним пінцетом витягували, в лунки, що утворилися, поміщали випробовувану речовину з врахуванням її об'єму. Об'єм середовища для верхнього шару коливався від 14 до 16 мл. Чашки підсушували протягом 30-40 хв при кімнатній температурі і ставили в термостат на 18-24 год.

При оцінці нових антибактеріальних речовин, а також при вивченні антибіотикостійких штамів застосовують наступні критерії:

- відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зону затримки діаметром до 10 мм оцінювали як нечутливість мікроорганізмів до внесеного в лунку зразка препарату або концентрації антибіотика;
- зони затримки росту діаметром 11-15 мм оцінювали як малу чутливість культури до кон-

центрації антибактеріальної речовини, що досліджувалася;

- зони затримки росту діаметром 15-25 мм оцінювали як показник чутливості мікроорганізмів до досліджуваного зразка гелю;
- зони затримки росту, діаметр яких перевищував 25 мм, свідчить про високу чутливість мікроорганізмів до препаратів, що вивчалися [7].

Результати та їх обговорення

Були приготовані зразки гелів з бронітролом у концентрації 0,1% (зразок №1), у концентрації 0,05% (зразок №7), у концентрації 0,2% (зразок №8), у концентрації 0,08% (зразок №9), з комплексом бронітрол : ніпагін 0,1% : 0,2% (зразок №2), з комплексом бронітрол 0,1% : натрію бензоат 0,1% (зразок №3), з комплексом натрію бензоат 0,1% : ніпагін 0,2% (зразок №4), з комплексом бронітрол 0,1% : ефірна олія розмарину 0,4% (зразок №5), з “гермабеном II” 0,8% (зразок №6), з комплексом бронітрол 0,1% : ніпагін 0,1% (зразок №10), а також зразок №11 був без консерванту.

Результати проведеного дослідження представлені у табл. 1-2.

Як свідчать дані табл. 1, через 28 днів інкубації при культивуванні на тіогліколовому середовищі спостерігалось зростання мікроорганізмів у зразку гелю №11.

У зразках №1-11 зростання грибів на середовищі Сабуро не реєструвалось, в гелях №1-10 зростання мікроорганізмів було відсутнє. Стерильно в пробірці розливали тіогліколеве середовище і рідке середовище Сабуро по 9,0 мл. У кожну з пробірок вносили по 1 г гелю. Посіви інкубували на протязі 28 днів на тіогліколовому середовищі в термостаті при температурі 35°C, посіви на рідкому середовищі Сабуро — при температурі 25°C і висівали на поживні середовища через 2 діб, 7 діб, 14 діб і 28 діб.

Необхідно відмітити, що у зразку №11 за морфологією колоній та деякими біологічними властивостями виділені мікроорганізми

Таблиця 2

Дослідження антибактеріальної активності зразків гелю

Зразок, №	Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів, мм, $M \pm m$, $p < 0,05$					
	St. aureus ATCC 25923	E. coli ATCC 25922	Pr. vulgaris ATCC 4636	Ps. aeruginosa ATCC 27853	B. subtilis ATCC 6633	C. albicans ATCC 885/653
1	30,32	28,25	18,19	25,22	23,21	20,18
2	25,30	24,25	17,16	22,20	21,22	19,18
3	25,25	25,20	16,17	22,21	22,21	15,14
4	x	x	x	x	x	x
5	30,30	33,30	21,22	29,27	27,28	20,19
6	26,27	22,18	14,14	16,14	14,15	16,15
7	30,32	15,18	15,16	20,19	19,20	13,14
8	40,42	25,27	14,15	26,28	27,27	12,12
9	35,36	20,22	15,17	27,25	26,27	13,12
10	30,31	18,19	13,14	25,24	25,24	13,11
11	x	x	x	x	x	x

Примітка: x — ріст мікроорганізмів, діаметри зон затримки росту відсутні.

можна віднести до роду *Bacillus* sp. (сухі сірі колонії з нерівними краями шорсткі, не блискучі, колонії негемолітичні). На диференційних середовищах (середовище Чистовича, середовище Ендо, поживний агар з кров'ю, що дефібрує) по виділенню кишкової групи, гемолітичних колоній і патогенних стафілококів зростання мікроорганізмів не спостерігалось.

При дослідженні методом глибокого посіву (зразок гелю у кількості 1,0 г) в агар і поверхневого посіву на агар визначали кількість життєздатних клітин мікроорганізмів і грибів. Дослідження глибокого і поверхневого посіву препаратів на чашках Сабуро показали відсутність росту грибів.

При культивуванні на поживному агарі був відмічений ріст мікроорганізмів у зразку №11 (кількість мікроорганізмів, що виросли, на 1 г гелю перевищувала 10^3 КУО/мл, що не відповідає вимогам ДФУ [7].

Наступним етапом наших досліджень була перевірка антимік-

робної активності зразків гелів з різними консервантами (зразки №1-11).

Дослідження проводили методом дифузії в агар (метод “колодязів”). Мікробне навантаження складало 10^7 мікробних клітин на 1 мл середовища і встановлювалося за оптичним стандартом каламутності ПСК ім. Л.А.Тарасевича (див. табл. 2).

У результаті вивчення антибактеріальної активності препарату показано, що зразки гелів №1-3, №5-10 мали антибактеріальну активність відносно *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 та проявляли активність відносно *Candida albicans* ATCC 885/653.

Зразки гелів з бодягою №4 та №11 (гель без консерванту) антимікробних та антифунгальних властивостей не мали.

Як свідчать дані табл. 2, найбільш активним був бронітрол

(зразки №1, 7, 8, 9), а додавання інших консервантів є недоцільним. Тому для подальших досліджень з метою вибору його оптимальної концентрації був обраний бронітрол.

ВИСНОВКИ

1. У результаті проведених досліджень було відмічено, що додавання консерванту у гелі з бодягою є обов'язковим, тому що у зразку без консерванту (№11) кількість життєздатних клітин грибів та життєздатних клітин мікроорганізмів перевищувала 10^3 КУО/мл, що не відповідає вимогам ДФУ.

2. Зразки гелів №1-3, №5-10 мали антибактеріальну активність відносно *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*. Дані препарати відповідали вимогам ДФУ при дослідженні на мікробіологічну чистоту.

3. На підставі проведених мікробіологічних досліджень у якості оптимального консерванту був обраний бронітрол.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бактеріологічний контроль поживних середовищ. Інформаційний лист МОЗ України №05.4.1/1670. — К., 2001. — 10 с.
2. Беликов О.Е. //Косметика&Медицина. — 2000. — №4. — С. 48-55.

3. Беликов О.Е., Пучкова Т.В. Консерванты в косметике и средствах гигиены. — М.: Школа косметических химиков, 2003. — 250 с.
4. Вестерман Т. // *Kosmetic International* (Рус. изд.). — 2003. — №1. — С. 67-68.
5. Гудзь О.В., Анисимова Ю.А., Яловенко Е.И. // *Провизор*. — 2000. — №12. — С. 38-39.
6. Давиденко Т.И., Мельник Е.А., Рудник Т.В. и др. // *Фізіологічно активні речовини*. — 2001. — №2 (32). — С. 61-64.
7. Державна фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 301 с.
8. Коральник С., Пучкова Т. // *Les nouvelles esthetiques* (Рус. изд.). — 2001. — №2. — С. 38-40.
9. Легин Г. Я. // *Хим.-фармац. журн.* — 1996. — Т. 30, №4. — С. 54-64.
10. Пешук Л.В., Бавіка Л.І., Демідов І.М. *Технологія парфумерно-косметичних продуктів*. — К.: Центр навчальної літератури, 2007. — 376 с.
11. Толстая М.В. // *Сырье и упаковка*. — 2004. — №2 (41). — С. 38-39.
12. *Cosmetic Preservatives Encyclopedia* // *Cosmetic&Toiltries*. — 1990. — Vol. 105, №4. — P. 45-64.
13. De Polo K.F. *A Short Textbook of Cosmetology*. — Augsburg: Verlag für chemische Industrie. H.Ziolkowsky GmbH, 1998. — P. 198-232.
14. Macconi A., Anchisi C., Sanna A., Dessi S. // *Intern. J. of Cosmetic Sci.* — 2002. — №24. — P. 53-59.
15. Mitsui T. *New Cosmetic Science*. — Amsterdam: Elsevier, 1997. — 499 p.
16. Steinberg D. // *Cosmetic&Toiltries*. — 2001. — Vol. 116, №1. — P. 22-24.

Адреса для листування: 61168, м. Харків,
вул. Блюхера, 4. Тел. (572) 67-87-75.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 03.06.2010 р.