

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

_____ Т. Г. Волова

«___» _____ 2019 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 Биология

**Санитарно-бактериологический анализ лечебных грязей
озера Плахино (Боровое)**

Научный руководитель _____ проф., д.б.н. С.В. Прудникова

Выпускник _____ А.А.Середа

Красноярск, 2019

РЕФЕРАТ

Бакалаврская работа на тему «Санитарно-бактериологический анализ лечебных грязей озера Плахино (Боровое)» содержит 33 страницы текстового документа, 47 использованных источников, 7 таблиц и 5 рисунков.

Ключевые слова: сапропель, санитарно-микробиологический анализ, МАФАМ, санитарно-показательные микроорганизмы, консервирование, Preventol D2.

Актуальность. Лечебные грязи (сапропель) озера Плахино (Боровое) – высокоэффективный лечебный продукт природного происхождения, применяющийся в санаторно-курортном лечении. Для использования лечебных грязей в косметологии необходим контроль безопасности применения такого рода продукции. Присутствие нежелательной микрофлоры – условно-патогенных или патогенных микроорганизмов – может нанести вред здоровью. Поэтому важно контролировать в парфюмерно-косметической продукции микробиологические показатели безопасности.

Цель данной работы – проведение санитарно-бактериологического анализа лечебных грязей озера Плахино (Боровое) для их применения в косметической продукции. Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

1. Исследование динамики численности микроорганизмов в лечебной грязи озера Плахино на разных сроках хранения:
 - определение количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (МАФАМ);
 - определение количества санитарно-показательных микроорганизмов: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и бактерий группы кишечной палочки (БГКП);
 - определение количества дрожжевых, дрожжеподобных и плесневых грибов.
2. Исследование влияния температуры хранения лечебной грязи озера Плахино на численность микроорганизмов.
3. Оценка методов повышения микробиологической стойкости лечебных грязей при хранении (пастеризация, консервирование).

Микробиологический анализ показал отсутствие патогенной микрофлоры в образцах лечебной грязи. Для увеличения сроков хранения продукции необходимо применение пастеризации и консервации. Установлены режимы обработки и хранения образцов, которые позволяют поддерживать количество микроорганизмов на безопасном уровне от 1 до 6 месяцев.

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|--|--|
| Введение | 4 |
| Глава 1. Обзор литературы | 6 |
| 1.1 Характеристика лечебной грязи озера Плахино (Боровое)..... | 6 |
| 1.2 Применение лечебной грязи озера Плахино (Боровое) в медицине и косметологии | 7 |
| 1.3 Оценка санитарного состояния грязи по основным микробиологическим показателям | 9 |
| 1.4 Гигиенические требования к производству и безопасности парфюмерно-косметической продукции..... | 10 |
| 1.5 Гомогенизация сапропелей для применения в косметической продукции..... | 13 |
| 1.6 Консервирование косметической продукции | 14 |
| Глава 2. Объекты и методы исследования..... | 19 |
| 2.1 Отбор образцов лечебной грязи озера Плахино(Боровое)..... | 19 |
| 2.2 Определение количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных бактерий (МАФAM) | 20 |
| 2.3 Методы обнаружения санитарно-показательных микроорганизмов..... | 20 |
| 2.4 Определение количества дрожжей и дрожжеподобных плесневых грибов | 21 |
| 2.5 Пастеризация..... | 21 |
| 2.6 Консервирование косметической лечебной грязи..... | 21 |
| Глава 3. Результаты..... | 23 |
| Выводы | Ошибка! Закладка не определена. |
| Список использованных источников | 25 |

Введение

Озерные сапропели представляют собой слой донных отложений пресноводных водоемов, насыщенный органическими веществами. Основными продуцентами сапропелей являются водоросли, фито- и зоопланктон, остатки высших растений и животных, микроорганизмы. Сапропель озера Плахино (Боровое) – высокоэффективный лечебный продукт природного происхождения. Имеет сложный биохимический состав. Его лечебные свойства обусловлены редким сочетанием органических веществ: витаминов; ферментов; гормоноподобных веществ; гуминовых соединений – мощнейших адсорбентов ядов, накопившихся в организме; липидов – природных антибиотиков [1].

Эффективность лечения лечебной грязью озера Плахино подтверждена клиническими наблюдениями ученых Томского НИИ курортологии и физиотерапии [2].

Микроорганизмы играют важную роль в формировании сапропелей и образовании биологически-активных веществ. В результате деятельности микробов в грязи образуется так называемый «летучий комплекс» - сероводород, летучие аминные основания, производные аммиака [3], который обладает наибольшей способностью проникать через неповрежденную кожу. С другой стороны, присутствие нежелательной микрофлоры – условно-патогенных или патогенных микроорганизмов – может нанести вред здоровью. Поэтому важно контролировать в парфюмерно-косметической продукции микробиологические показатели безопасности.

Одним из способов защиты косметико-гигиенической продукции от микробного заражения является консервирование, которое повышает устойчивость продуктов к микробной контаминации в процессе хранения и применения.

Цель данной работы – проведение санитарно-бактериологического анализа лечебных грязей озера Плахино (Боровое) для их применения в косметической продукции. Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

1. Исследование динамики численности микроорганизмов в лечебной грязи озера Плахино на разных сроках хранения:
 - определение количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (МАФАМ);

- определение количества санитарно-показательных микроорганизмов: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и бактерий группы кишечной палочки (БГКП);
 - определение количества дрожжевых, дрожжеподобных и плесневых грибов.
2. Исследование влияния температуры хранения лечебной грязи озера Плахино на численность микроорганизмов.
 3. Оценка методов повышения микробиологической стойкости лечебных грязей при хранении (пастеризация, консервирование).

Глава 1. Обзор литературы

1.1 Характеристика лечебной грязи озера Плахино (Боровое)

Плахинский сапропель – уникальная реликтовая грязь, в отличие от лечебных грязей других месторождений он прошел полный цикл биосинтеза. Он не разлагается, не имеет запаха, характерного для других лечебных грязей, а также способен к регенерации, т. е. самоочищению в течение 4-6 месяцев. По данным химического анализа, сапропель на 28-42 % состоит из органических остатков – микроводорослей, семян растений, микрораковин зоопланктона, связанных пелитовой карбонатной массой. Минеральные включения представлены мельчайшими обломками кварца и составляют 1-3 % от общего состава. Оценка бальнеологических свойств сапропелей проводилась Томским научно-исследовательским институтом курортологии и физиотерапии в 1992, 2003, 2005 годах [5]. Согласно результатам проведенных физико-химических анализов в соответствии с методическими указаниями №2000/34 "Классификация минеральных вод и лечебных грязей для целей их сертификации", донные отложения озера Боровое (Плахино) являются кондиционными, по основным показателям относятся к группе пресноводных бессульфидных среднезольных сапропелевых лечебных грязей Молтаевской разновидности, добываемых на оз. Молтаево в Свердловской области [4].

Внешне сапропель характеризуется серой неоднородной окраской, мягкой консистенцией, удовлетворительной пластичностью. Влажность составляет 92,2%, содержание зольного остатка – 36,3%, органических веществ – 20,42% (на сухое вещество). Минеральные включения крупнее 5 мм отсутствуют, засоренность частицами размером более 0,25 мм не превышает нормируемого значения для лечебных грязей [3].

В составе лечебных грязей выделяют три основных компонента: основа грязевого скелета (кристаллические соли кальция и магния, глинистые и песчаные частицы), грязевой раствор (растворенные соли рапы, соли органических кислот, которые образуются за счет разложения микрофлоры и микрофауны лимана под влиянием микробов-грязеобразователей), коллоидный комплекс (гумус, органические вещества).

Содержащиеся в лечебных грязях органические кислоты, такие как: муравьиная, уксусная, гуминовая, раздражающе действуют на кожные покровы. В лечебных грязях также обнаружены биологически активные вещества типа женских половых гормонов (фолликулин, синестрол),

антибиотиков, биогенных стимуляторов, микроэлементы. Органическое вещество лечебных грязей определяет их важнейшие в лечебном отношении физико-химические свойства – большую теплоемкость, малую теплопроводность, высокую адсорбционную способность[3].

Сапропелевая лечебная грязь имеет сложный биохимический состав. Лечебные свойства обусловлены редким сочетанием органических веществ: витамины, ферменты, гормоноподобные вещества, гуминовые соединения (мощнейшие абсорбенты ядов) накопившихся в организме, липиды, а также редкие элементы: цинк, серебро, селен, медь и др. В составе сапропеля содержатся также белки, углеводы, азот, битумы, летучие жирные кислоты. Наличие в сапропеле липидов (32,3 г/кг сухого остатка) обуславливает их бактериостатическую и бактерицидную активность [3]. Кроме того, Томским НИИ КиФ установлена высокая противовоспалительная активность липидных экстрактов, выделенных из сапропеля. Влияние на организм человека некоторых групп составляющих: углерод органический, азотосодержащие вещества, летучие жирные кислоты, S102, F203 вызывают раздражение множества рецепторов кожи и сосудов, проникают в кровь и внутренние органы; витамины: А, В1, В2, В3, В6, С, D, Е, бета-каротин, фолиевая кислота, В12 и железо помогают справиться с анемией; физическая группа микроорганизмов, в т. ч. микроорганизм, продуцирующий антибиотики, активные против болезнетворных бактерий. Они успешно справляются с патогенной флорой, устраняя воспалительный процесс, не повреждая полезную микрофлору; аминокислоты – лизин, лейцин, изолейцин, гистидин и другие, незаменимый строительный материал для наших клеток (ферментов, гормонов и других жизненно важных субстанций); гормоноподобные вещества типа фолликулина и андростерона.[6] Гуминовые вещества обладают мощным абсорбирующим действием. Они, как губка, впитывают в себя яды, токсины, кислоту и гнилостные газы, которые часто являются причиной многих кожных и аллергических заболеваний, и выводят их из организма [3].

1.2 Применение лечебной грязи озера Плахино (Боровое) в медицине и косметологии

Сапропели используются в различных отраслях промышленности, но в силу своей обогащенности практически всем спектром биологически активных веществ, наибольший интерес представляет использование этого сырья в здравоохранении (в косметологии, медицине, бальнеологии). Так,

например, известны косметические средства, в которых либо основой является гомогенизированный лечебный сапропель с добавками природного и химического происхождения и вода, либо сапропель является добавкой наряду с эмульгаторами, антиоксидантами, консервантами, водно-спиртовыми экстрактами растений, масляными компонентами и водой. В бальнеологии, медицине сапропель используется как в нативном виде или в составе фармацевтических препаратов, так и в виде вытяжек [2]. Сапропель является богатым материалом для выделения из него биологически активных веществ в виде различных по химическому составу экстрактов. Также существуют препараты, основанные на биологической активности сапропеля, обладающие антикоагулянтной, радиопротекторной активностью [5].

Эффективность лечения Плахинской лечебной грязью подтверждена клиническими наблюдениями ученых Томского научно-исследовательского института курортологии и физиотерапии. Лечебные грязи оз. Боровое оказывают обезболивающее, противовоспалительное, успокаивающее действие и повышают иммунитет [2].

Комплексное воздействие этих факторов создает неповторимость и уникальность действия сапропеля на весь организм человека. Современная наука пока не в состоянии получить их аналог искусственным путем, однако использовать созданное природой человек способен. На основе лечебного сапропеля оз. Боровое, компания «ДС» разработала косметическую серию, обработанную по оригинальной технологии и готовую к применению в домашних условиях [5].

Лечебные грязи – природные коллоидальные органоминеральные образования (иловые, торфяные, сопочные и другие), которые оказывают на организм человека лечебное воздействие благодаря своей пластичности, высокой теплоемкости и медленной теплоотдаче, содержанию биологически активных веществ (солей, газов, витаминов, ферментов, гормонов и других) и живых микроорганизмов.

Терапевтическое действие лечебных грязей обусловлено тепловым и механическим эффектом, но прежде всего – особенностью химического состава и наличием биологически активных веществ.

В основе физиологического действия лечебных грязей лежит комплексное влияние на организм температурного, механического и химического факторов.

Лечебная грязь усиливает периферическое кровообращение, способствует более интенсивному движению эритроцитов, переносу и отдаче кислорода, улучшению оксигенации ткани и обмена веществ. Под влиянием

грязевых процедур улучшается венечное кровообращение, меняются сократительная способность миокарда и периферическое сопротивление. [18]. Во время приема процедур учащаются пульс и дыхание, повышается артериальное давление, которое затем снижается, усиливается потоотделение, повышается функция мочевыделения. Существенную роль в развитии и течении указанных изменений играет вегетативная нервная система.

Развивающиеся под влиянием грязелечения нервно-рефлекторные процессы приводят к усилению потоотделения, при котором из организма выделяется значительная часть хлоридов, усиливается элиминация токсических и промежуточных продуктов обмена веществ из клеток. Значительные изменения под влиянием грязелечения развиваются в главных пищеварительных железах: снижаются кислотность желудочного сока и содержание соляной кислоты [12].

Маски для лица оказывают успокаивающее, релаксирующее действие, очищают поры, усиливают их дренаж, способствуют удалению комедонов. Сапропель абсорбирует избыток кожного сала, отмершие клетки и выравнивают рельеф кожи [7]. Регулярное применение масок способствует постепенному уменьшению угревых высыпаний, купированию воспалительных реакций кожи. Маски заметно отбеливают кожу.

1.3 Оценка санитарного состояния грязи по основным микробиологическим показателям

Санитарное состояние определяют следующими способами:

- подсчетом общего количества микроорганизмов.
- определением количества отдельных физиологических групп микроорганизмов, например, нитрифицирующих или целлюлозоразлагающих бактерий. Появление нитрифицирующих бактерий (нитрификаторов) указывает на развитие процесса самоочищения, так как они завершают цикл разложения азотсодержащих соединений, превращая аммиак в азот. При свежем фекальном загрязнении нитрификаторов не будет, поскольку субстрат для их развития отсутствует. В ходе жизнедеятельности микроорганизмов, разлагающих органические вещества, образуется аммиак, что приводит к развитию нитрификаторов (табл. 1) [26].

Прямое обнаружение патогенных микробов в почве проводят только при расследовании вспышек инфекционных заболеваний. В качестве косвенных показателей возможного загрязнения грязи патогенными

бактериями используют санитарно-показательные микроорганизмы: бактерии группы кишечной палочки, *Clostridium perfringens*, бактерии из рода *Proteus*, термофильные бактерии [21].

Таблица 1 – Количественные показатели микробиологической чистоты

| Характеристика | Коли-титр | Перфрингенс-титр | Количество термофильных бактерий | Количество нитрифицирующих бактерий |
|---------------------|--------------|------------------|----------------------------------|-------------------------------------|
| Чистая | 1,0 и выше | 0,01 и выше | $10^2 - 10^3$ | 0,1 и выше |
| Загрязненная | 0,9-0,01 | 0,009-0,0001 | $10^3 - 10^5$ | 0,01- 0,001 |
| Сильно загрязненная | 0,009 и ниже | 0,00009 и ниже | От 10^5 до 4×10^6 | 0,0001 и ниже |

Наличие в грязи бактерий группы кишечной палочки свидетельствует о ее фекальном загрязнении. В загрязненных участках грязи коли-титр составляет $1 \cdot 10^{-4}$, тогда как в чистых грязях коли-титр может быть равен 1 и выше. Обнаружение *Cl. perfringens* в сапропеле также указывает на ее фекальное загрязнение [8].

1.4 Гигиенические требования к производству и безопасности парфюмерно-косметической продукции

Грязь рассматривается учеными как один из возможных путей передачи инфекционных патологий [21]. С выделениями больных людей или животных в почву проникают патогенные микроорганизмы. Некоторые из них, в частности, споровые, способны сохраняться в грунте продолжительное время (иногда несколько десятков лет). В сапропель попадают возбудители таких опасных инфекций, как столбняк, сибирская язва, ботулизм и пр. Методы санитарно-микробиологического исследования почвы позволяют определить "микробное число" (количество микроорганизмов в грамме грунта), а также коли-индекс (количество кишечных палочек) [38].

Перечень микробиологических показателей безопасности парфюмерно-косметической продукции:

- общее количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов,
- *Staphylococcus aureus*,
- *Pseudomonas aeruginosa*,

- дрожжи и дрожжеподобные плесневые грибки,
- сем. *Enterobacteriaceae* [43].

Стафилококки – условно патогенные микроорганизмы, являются представителями нормальной микрофлоры человека и животных, густо колонизируют различные биотопы организма (кожу, слизистую носа и зева ротовой полости, брюшную полость и подмышечные области).

Стафилококки внедряются в организм через кожные покровы и слизистые оболочки. Механизм инфицирования обычно связан с переносом возбудителя из участков колонизации на травмированную поверхность. Существенную роль играют также тесные контакты с носителями и лицами, страдающими стафилококковыми поражениями [2].

Стафилококки – род шаровидных неподвижных аспорогенных грамположительных хемоорганотрофных факультативно-анаэробных или аэробных бактерий из семейства *Staphylococcaceae*. В роду *Staphylococci* выделяют около 30 видов, при этом 14 обнаружены на коже и слизистой человека, включая *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*[14].

Стафилококки присутствуют в воздухе, пыли, воде, на оборудовании производств, на различных поверхностях в окружающей среде, на кожных покровах людей и животных. Именно люди и животные являются основным резервуаром инфекции. Стафилококки присутствуют в полостях носа, и горле, а также на волосах и кожном покрове, по крайней мере, у 50% здоровых людей.

Staphylococcus aureus – факультативно анаэробные грамположительные кокки, неподвижные, каталазо- и коагулазоположительные.

На коже и в мягких тканях стафилококк вызывает так называемый синдром шелушащейся кожи и целлюлиты, являющиеся наиболее частыми инфекционными болезнями кожи.

Восприимчивость к стафилококкам очень низкая у лиц с нормальным иммунным статусом и повышенная у иммунокомпромиссных хозяев. Очень часто стафилококковая инфекция развивается на фоне вторичных иммунодефицитов. Стафилококки являются этиологическим фактором заболеваний, подавляющее большинство которых носят гнойно-воспалительный характер. Бактерии способны поражать практически любые ткани организма. Вызываемые *S. aureus* инфекции разнообразны и включают более 100 нозологических форм, в числе которых абцессы, панариции, фурункулез, стоматит и т.д. Заболевания, вызываемые *S. aureus*, могут протекать остро или хронически [9].

Синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*) – подвижный микроб, который для своего развития нуждается в обязательном присутствии кислорода, имеет капсулу (она защищает микроб от поглощения лейкоцитами), спор не образует[10]. Бактерия отличается особой устойчивостью к большому числу противомикробных препаратов. Это условно патогенный для человека микроорганизм, т.е. обитающий в организме и способный при определенных условиях вызывать инфекционное заболевание. Синегнойная палочка может обнаруживаться в составе нормальной микрофлоры некоторых участков кожи (паховой и подмышечной области, околоушной области и др.). Бактерия вызывает заболевание у ослабленных людей при массивном обсеменении организма и при нарушениях иммунитета. Синегнойная палочка выделяет экзо- и эндотоксины. Кроме того, синегнойная палочка вырабатывает ряд ферментов. Токсины и ферменты и вызывают патологические изменения в организме человека при развитии инфекционного процесса: разрушение эритроцитов и лейкоцитов, некроз печеночных клеток, поражение сосудов и другие. Синегнойная палочка вызывает синегнойную инфекцию с поражением различных органов и систем[15]. Локализация поражения зависит, прежде всего, от пути проникновения микроба в организм человека. Возбудителя синегнойной инфекции можно обнаружить в открытых водоемах (загрязненных сточными водами), в почве, в желудочно-кишечном тракте животных, птиц и человека.

Источником инфекции являются человек и некоторые животные, больные синегнойной инфекцией, или носители бактерии. Особую опасность представляют больные воспалением легких, вызванным синегнойной палочкой, и пациенты с гнойными ранами. Заражение может произойти контактно-бытовым путем, пищевым и воздушно-капельным путями. Преимущественным является бытовой путь заражения [45]. Факторами передачи инфекции в этом случае могут служить предметы обихода: полотенца, дверные ручки, раковины и краны, унитазы, помазки для бритья, также инструментарий, аппаратура, руки медицинского персонала, недостаточно продезинфицированные или обработанные дезинфицирующими растворами, которые оказались неэффективными в отношении синегнойной палочки. При пищевом пути заражения синегнойной палочкой связано с употреблением пищевых продуктов (мясо, молоко) или воды, в которых содержится микроб [16]. При воздушно-капельном пути заражения происходит при вдыхании воздуха, содержащего возбудителя (при несоблюдении санитарно-гигиенических норм или при нечувствительности

бактерии к дезинфицирующим растворам). Входными воротами для синегнойной палочки может быть кожа, желудочно-кишечный тракт, пупочная ранка, мочевыделительная система, органы дыхания и конъюнктивы глаз. Сезонности синегнойная инфекция не имеет. Наибольшая восприимчивость отмечается у лиц с иммунными нарушениями, а также в пожилом и детском возрасте [10].

Кишечная палочка (*Escherichia coli*, *E. coli*) – палочковидная бактерия, принадлежащей к группе факультативных анаэробов [44]. Кишечная палочка имеет множество штаммов, большинство из которых принадлежит к естественной микрофлоре кишечника людей и помогает предотвращать развитие вредоносных микроорганизмов и синтезировать витамин *K*. Однако некоторые её разновидности (например, серотип O157:H7) способны вызвать серьезные отравления, кишечный дисбактериоз и колибактериоз [46].

Нормальная микрофлора кишечника включает в себя множество микроорганизмов, среди которых – лактобактерии, энтерококки, стрептококки и проч. Штаммы этих бактерий находятся в равновесии, но если последнее каким-либо образом нарушится, патогенные микроорганизмы начнут усиленно размножаться. При этом активизируются процессы брожения и гниения, вызывая развитие серьезных заболеваний.

Некоторые штаммы кишечной палочки вызывают не только заболевания желудочно-кишечного тракта, но также поражают мочеполовую систему, провоцируют кольпит, цистит, простатит, менингит у младенцев, также могут стать причиной развития гемолитически-уремического синдрома, перитонита, мастита, пневмонии и сепсиса [17].

Заражение патогенными штаммами кишечной палочки происходит преимущественно фекально-оральным путем. Способствует развитию заболеваний нарушение правил гигиены приготовления пищи, употребление грязных фруктов и овощей, использование воды для полива, загрязненной или сточной. Опасно также есть плохо прожаренное мясо или пить некипяченое молоко, ведь коровы, козы, свиньи и овцы могут быть носителями патогенных штаммов *E. coli* [11].

1.5 Гомогенизация сапротелей для применения в косметической продукции

Гомогенизация – это технологический процесс, производимый на двух- или многофазной системой, в ходе которого уменьшается степень

неоднородности распределения химических веществ и фаз по объёму гетерофазной системы [33].

В настоящее время в НИЛ "Переработки и органического анализа природного сырья" ТГУ разработана новая механо-физическая технология глубокой переработки сапропелей [34], которая способствует большему извлечению из клеток нативного сырья биологически активных веществ, в том числе липидов, в водную фазу. Удалось это сделать с помощью многофункционального реактора вибро-магнитного типа [37]. Основными параметрами воздействия реактора являются: скорость затопленных струй, сдвиговая скорость, перепад давления в зоне активации, магнитное поле, которые обеспечивают гомогенизацию, диспергирование частиц сырья, разрыв клеточных структур, гидролиз биополимеров до низкомолекулярных соединений и выброс биологически активных веществ в виде водорастворимых и коллоидных частиц в водную среду. Данная технология является экологически безопасной, поскольку вместо химических добавок и органических растворителей используется только вода, и ресурсосберегающей, поскольку производство продуктов является безотходным. Полученный продукт отвечает требованиям многофункциональности, универсальности и экологичности. Сфера применения продукта – косметология, средство для лечения кожных, многих воспалительных заболеваний [32].

1.6 Консервирование косметической продукции

Консервирование косметической продукции – это способ защиты от микробного заражения. Цель консервирования – повышение устойчивости косметико-гигиенических продуктов и изделий бытовой химии к микробному заражению в процессе хранения и применения. Указанная цель достигается введением консерванта. Осуществление предлагаемого способа позволяет повысить устойчивость косметико-гигиенических продуктов и изделий бытовой химии к микробному заражению без повышения концентрации консерванта [25].

1.6.1 История консервирования природной косметики

На заре становления промышленной косметологии возникла потребность увеличения длительности хранения косметических средств, для обеспечения функционирования цепочки, состоящей из трех «П»: Производство – Продажа – Потребитель. Именно в этот период возникают первые проблемы, связанные с недооценкой микробиологической

обсемененности косметических препаратов [27]. Так в 1946 году в новозеландском медицинском журнале была опубликована статья с описанием вспышки заболевания, связанного с применением порошкового талька (пудры), содержащего *Clostridium tetani*. Позднее, вплоть до 70-х годов прошедшего столетия, подобные ситуации возникали неоднократно. Это был период постепенного перехода к использованию антимикробных (биоцидных) веществ в качестве обязательных ингредиентов косметических средств и законодательному закреплению ограничений содержания микроорганизмов в косметической продукции [41]. В настоящее время, несмотря на высокие объемы производства и сбыта косметических средств (по некоторым оценкам, в мире ежегодно используется 10 в 12 степени единиц косметической продукции), количество официально зарегистрированных случаев заражения потребителей косметики сведено к нулю. Очевидно, в основном, это обстоятельство объясняется особым вниманием фирм-производителей косметических препаратов к проблеме консервирования с использованием все более эффективных биоцидных добавок.

Так началась новая эра косметологии, включающая развитие производства косметических средств второго поколения, обладающих способностью к длительному хранению за счет введения в их составы биоцидных консервирующих добавок, которая продолжается в настоящее время. Известно более 500 составов косметических средств, опубликованных в патентах США, Франции и России [41]. Химически синтезированные биоцидные добавки разделены на несколько групп:

- парабены и примыкающие к ним (по строению молекул) бензойная и салициловая кислоты и их производные; возможно в эту группу следует включить фенол;
- алифатические спирты (бензиловый, этиловый и феноксиэтанол);
- борная кислота и ее соли;
- параформ и другие вещества, продуцирующие формальдегид (димол и т.п.);
- разнообразные известные в фармакопее антибиотики;
- индивидуальные вещества с заведомо различными механизмами воздействия на микроорганизмы (бронопол, гексахлорофен, имидазолидинил мочевины и т.д.) .

В этой классификации не учитывались смеси индивидуальных веществ – биоцидов (типа гермабенов, катонов, нипагинов и т.п.), наиболее широко распространенные в современных косметических средствах [42].

1.6.2 Консервирование косметики поваренной солью (NaCl)

Хлорид натрия – известная всем неорганическая соль (поваренная соль). Это вещество широко применяется в составе различной косметики, но в целом хлорид натрия имеет важное значение для всех биологических видов: это соединение встречается в большинстве тканей и жидкостей организма человека.

Поваренная соль широко используется в составах домашних косметических средств, преимущественно в составах скрабов, распространена она и в косметической индустрии. Производители косметики применяют хлорид натрия не только как эксфолиант, но и как усилитель вкуса, агента для увеличения вязкости и даже слабого антисептика (всем известно мягкое антимикробное действие морской воды – оно зависит как раз за счет концентрации соли).

Возможно, наиболее распространенная роль хлорида натрия в косметике – это роль загустителя. Так, соль обычно используется для загущения водной фазы шампуней, гелей для душа, очищающих средств для лица. Еще одна задача роль хлорида натрия – использование в качестве абразива в скрабах и гоммажах [40].

Хлорид натрия – это компонент многочисленных формул с самыми различными задачами. Отдельного упоминания заслуживает запатентованная формула «Кротеин», которая представляет собой сочетание хлорида натрия и аминокислоты кератина. При помощи хлорида натрия (он изменяет осмотическое давление) кератин проникает в стержень волоса, укрепляя его и повышая его пластичность. Эта же формула используется для кондиционирования ногтей и кутикулы [25].

Хлорид натрия используется, в основном, в качестве связующего агента в продуктах по уходу за кожей, а иногда и в средствах личной гигиены (в зависимости от концентрации образует гипертонический или изотонический раствор). Поваренная соль широко встречается в косметике и средствах личной гигиены. В частности, хлорид натрия используется в составах ополаскивателей для рта, лечебных ванн для ног. Его добавляют в шампуни, очищающие средства для кожи лица и тела, продукты для ванны, средства для стайлинга, а также в формулы декоративной косметики – тональные кремы, основы и пудры [24].

1.6.3 Консервирование косметики биоцидом (Preventol D2)

Preventol D2 (фенилметоксиметанол) является простым эфиром бензилового спирта и метиленгликоля: $C_6H_5CH_2O(CH_2O)_xH$, где число метоксигрупп $x = 1,5$ [32].

Реакция метилирования спиртов, в отличие от необратимо протекающей реакции формальдегида с фенолами, при наличии воды идет в обратном направлении с выделением $HOCH_2OH$, который, в свою очередь находится в равновесии с формальдегидом, оказывающим биоцидный, денатурирующий эффект. Применение бензилгемиформала во многих странах ограничивается мылами и другими смываемыми с кожи продуктами. Кроме средств гигиены, он в качестве консерванта и биоцида используется в лаках для ногтей, СОЖ, клеях, бытовых химикатах, в бумажной, деревообрабатывающей, лакокрасочной и других отраслях промышленности. Максимальная концентрация в препаратах косметико-гигиенического назначения от 0,5-0,15% [26].

1.6.4 Консервирование косметики *Kemidant L (DMDM Hydantoin)*

Демитилолдиметилгидантоин (INCI: ДМДМ гидантоин; DMDMH, глидант; IUPAC: 1,3- бис(гидроксиметил)- 5,5- диметилимидазолин-2,4-дион) является продуктом присоединения двух молей формальдегида к диметилгидантоину. Это достаточно популярный консервант является донором формальдегида и разрешен к применению в косметике, бытовых и технических средствах и других продуктах. Выпускается в форме 30-70%-го водного раствора. Стабилизированный 70%-ый водный раствор ДМДМ гидантоина включает, примерно, 36% из диметилолдиметилгидантоина (I), 29% монометилол-производного и 5% диметилгидантоина. Бактерицидным действием обладает продукт присоединения одного моля формальдегида – MDMH (структуры II и III):

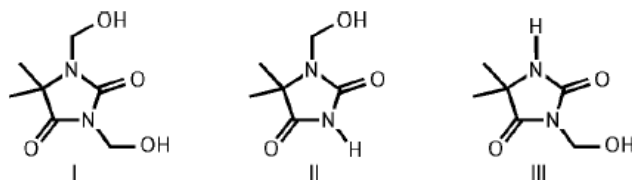


Рисунок 1 – IUPAC:

(I) – 1,3-бис(гидроксиметил)-5,5-диметилимидазолин-2,4-дион;

(II) – 3-гидроксиметил-5,5-диметилимидазолин-2,4-дион;

(III) – 1-гидроксиметил-5,5-диметилимидазолин-2,4-дион

Глидант – бесцветная жидкость со слабым запахом, имеющая температуру застывания 11 °С. Содержит некоторое количество свободного

формальдегида. Хорошо растворим в воде, плохо в маслах и неполярных органических растворителях. Он может использоваться в кремах, шампунях и ополаскивателях в концентрации до 0,10 – 0,15% (в Японии он разрешен только в смываемых продуктах). Глидант – донор формальдегида; это один из современных эффективных, сравнительно малотоксичных консервантов. Данные его минимальной ингибирующей концентрации для разных микроорганизмов приведены в таблице 2 [29].

Таблица 2 – Значения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) микроорганизмов для ДМДМ гидантоина (глиданта),

| Виды микроорганизмов | МИК, ч/млн. |
|---|-------------|
| Грамположительные бактерии | |
| <i>Bacillus cereus</i> подвид <i>mycoides</i> | 100 |
| <i>Bacillus subtilis</i> | 600 |
| <i>Corynebacterium ammoniagenes</i> | 100 |
| <i>Sarcina lutea</i> | 200 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 600 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 500 |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | 500 |
| Грамотрицательные бактерии | |
| <i>Alcaligenes faecalis</i> | 500 |
| <i>Aureobacterium esteraromaticum</i> | 500 |
| <i>Burkholderia cepacia</i> | 500 |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> | 500 |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 1250 |
| <i>Escherichia coli</i> | 500 |
| <i>Proteus vulgaris</i> | 500 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1200 |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 500 |
| <i>Pseudomonas oleovorans</i> | 200 |
| Плесневые и дрожжевые грибы | |
| <i>Aspergillus niger</i> | 100 |
| <i>Candida albicans</i> | 1000 |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 100 |

Глава 2. Объекты и методы исследования

Объектом исследования была лечебная грязь, взятая с озера Плахино (Боровое) в Абанском районе Красноярского края (рис.2). Водоем расположен на правом берегу реки Бирюсы, в 7 км от деревни Плахино. Озеро имеет каплевидную форму. Площадь озера составляет около 1,45 км², максимальная мощность донных отложений 3-5 м, глубина около 1,5-1,7 м. Содержание солей 350 мг/л, реакция среды — нейтральная.



Рисунок 2 – Озеро Плахино (Боровое) в Абанском районе Красноярского края (Источник: <https://naenisee.ru/region/abanskiy/area/609>)

2.1 Отбор образцов лечебной грязи озера Плахино (Боровое)

Добыча лечебной грязи озера Плахино производилась согласно технологической схеме. При расфасовке в качестве потребительской тары используются полипропиленовые мешки с полиэтиленовым вкладышем вместимостью 35 кг. Для мелкооптовой и розничной реализации лечебная грязь упаковывается в полипропиленовую тару (банки, ведра) вместимостью 0,8; 3; 10 кг. Грязь лечебная озера Плахино соответствует ТУ 9365-002-01429099-2006.

Срок годности лечебной грязи – 12 месяцев с даты изготовления при условии ее транспортировки и хранения при температуре от +6°С до +20°С в условиях, исключающих ее загрязнение механическими примесями,

химическими веществами, патогенными микроорганизмами, а также воздействие радиационного излучения [12].

2.2 Определение количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных бактерий (МАФАМ)

Микробиологический анализ образцов лечебной грязи проводили в соответствии с МУК 4.2.801-99 "Методы микробиологического контроля парфюмерно-косметической продукции".

Для определения микробного числа пробы отбирали в асептических условиях, измельчали, растирали и готовили несколько десятикратных разведений (1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000) для последующего посева. Посев проводили в глубину мясопептонного агара – МПА (Nutrient agar, HiMedia, Индия): 1 мл соответствующего разведения суспензии вносили в пустую стерильную чашку Петри и заливали 20 мл расплавленного и охлажденного до 45°C МПА; среду перемешивали, осторожно вращая чашку Петри в горизонтальной плоскости. После застывания среды чашки помещали в термостат при 37°C на сутки [19].

2.3 Методы обнаружения санитарно-показательных микроорганизмов

Для обнаружения *S. aureus* использовали желточно-солевой агар (ЖСА). Для приготовления ЖСА к стерильному, расплавленному и охлажденному до 48°C МПА (рН 7,2-7,4) с 10% натрия хлорида добавляли 15-20% по объему стерильной желточной эмульсии (из хорошо вымытого и обожженного спиртом яйца извлекают желток и разбивают его в 150-200 мл стерильного физиологического раствора). Среду быстро перемешивают и разливают в чашки Петри. После застывания среды, вносили суспензию и распределяли стерильным шпателем. Чашки помещали в термостат при 37°C на сутки. [15].

Для обнаружения *P. aeruginosa* использовали *Pseudomonas*-агар (HiMedia, Индия): 1 мл суспензии наносили на поверхность стерильного агара и помещали в термостат при 37°C на сутки [16].

Для обнаружения бактерий семейства *Enterobacteriaceae* использовали агар Эндо (HiMedia, Индия): 38 г среды на 1 л дистиллированной воды, прокипятить до полного расплавления агара, остудить до 45°C, разлить в

чашки Петри. После посева чашки помещали в термостат при 37°C на сутки. [17].

2.4 Определение количества дрожжей и дрожжеподобных плесневых грибов

Для определения количества дрожжей и дрожжеподобных плесневых грибов использовали среду Сабуро (HiMedia, Индия): препарат в количестве 62 г размешивали в 1 л дистиллированной воды, кипятили до полного расплавления агара в течение 2 - 3 минут, фильтровали через ватно-марлевый фильтр. Разливали в стерильную посуду и стерилизовали в автоклаве в течение 15 минут при температуре (121 ± 1) °C. Среду охлаждали до температуры $(47,5 \pm 2,5)$ °C, разливали по (25 ± 5) см³ в стерильные чашки Петри. После посева помещали в термостат при 37 °C, на следующий день доставали и еще 2-3 дня растили при комнатной температуре [48].

2.5 Пастеризация

Пастеризацию образцов лечебной грязи проводили на водяной бане при температуре 60°C в течение 30 минут. Посев пастеризованных образцов на среды МПА, Эндо и Сабуро проводили в день пастеризации после остывания. Микробиологическую стойкость проверяли через 7 суток хранения при 25°C, высевая на питательные среды.

2.6 Консервирование косметической лечебной грязи

Консервирование косметической лечебной грязи проводили с добавлением различных консервантов в разных концентрациях: NaCl, Kemidant L (ДМДМ гидантоин) и Preventol D2. Консерванты добавляли после гомогенизации. Образцы оставляли при комнатной температуре или в холодильнике (4 °C).

Способ 1. Консервант NaCl добавляли в концентрации 5, 7, 9 и 12% в образцы продукта и упаковывали в тубы (200 мл). Пастеризацию не проводили. Через 3 месяца выполнили посев проб с разными концентрациями консерванта на среды МПА и Эндо.

Способ 2. Консервант Kemidant L (ДМДМ гидантоин) вносили в образцы лечебной грязи в концентрации 0,15%. Пастеризацию не проводили. Через сутки выполнили посев проб с консервантом на среды МПА и Эндо.

Способ 3. Консервант Preventol D2 вносили в образцы лечебной грязи в концентрации 0,1; 0,05 и 0,15%. Пастеризацию не проводили. Через сутки выполнили посев проб с этими концентрациями биоцида на среды МПА и Эндо. Микробиологическую стойкость проверяли через 1 месяц хранения при 25°C, высевая на питательные среды МПА и Эндо.

Способ 4. Консервант Preventol D2 вносили в образцы лечебной грязи в концентрации 0,15% после пастеризации. Микробиологические показатели определяли в динамике через 1, 4, 6, 10 месяцев хранения при 25°C и 4°C, высевая на питательные среды МПА и Эндо.

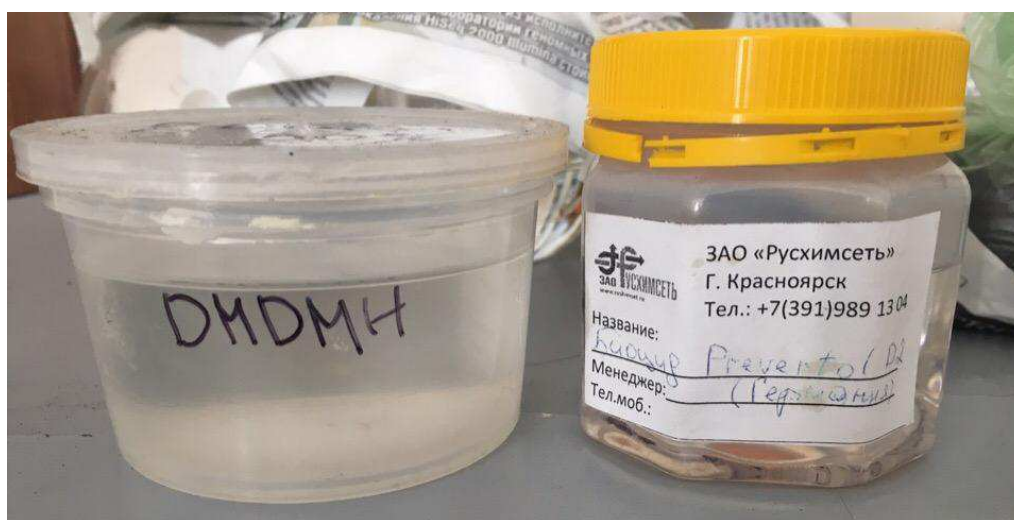


Рисунок 4 – Косметические консерванты: Kemidant L и Preventol D2

Глава 3. Результаты

Изъято 7 страниц

Выводы:

На основании полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1. Ни в одном из исследованных образцов лечебных грязей озера Плахино (Боровое) условно-патогенные бактерии *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* обнаружены не были.

2. Использование хлорида натрия в качестве консерванта нецелесообразно при длительном хранении лечебных грязей, т.к. не снижает МАФАМ до разрешенного уровня и не препятствует росту бактерий группы кишечной палочки.

3. Консервант Preventol D2 в концентрации 0,15% наиболее эффективен в подавлении роста микроорганизмов в образцах лечебных грязей.

4. Применение пастеризации в комбинации с консервантом Preventol D2 (0,15%), а также пониженная температура хранения (4°C) позволяют обеспечить микробиологическую стойкость лечебных грязей не менее 6 месяцев.

Список использованных источников

1. Джабарова Н. К. Яковенко Э. С., Тронова Т. М. Перспективы развития курортно-рекреационной отрасли Красноярского края //Курортная база и природные лечебно-оздоровительные местности Тувы и сопредельных регионов. – 2015. – №. 2. – С. 28-32.
2. Пушкарева Т. А., Тронова Т.М., Клопотова Н.Г., Бородина М.Г. Сапропели озер Сибири для курортно-рекреационных целей. Томск, 2010. – С. 222.
3. Платонов В. В., Ларина М.А., Горохова М.Н., Белозерова Л.И., Иерусалимский К.В. Сапропели – кладовая биологически активных соединений //Вестник новых медицинских технологий. – 2016. – Т.10. – №. 3.
4. Федоров А. А., Курочкин В. Ю., Чудинова О. А. Состояние месторождения лечебных грязей" Озеро Молтаево" на современном этапе и инновационные медицинские технологии их применения в профпатологии //Курортная медицина. – 2014. – №. 2. – С. 17-21
5. Баева О. Н., Кондрацкая Т. А., Хлебович Д. И. Разработка стратегий в системе корпоративных отношений (на примере санаторно-курортного учреждения) // Известия Байкальского государственного университета. – 2015. – Т. 25. – №. 6.
6. Ложкина М. Б. и др. Лечебно-оздоровительный туризм в Томской области и перспективы его развития: магистерская диссертация по направлению подготовки: 05.04. 02-География. – 2017.
7. Маев Э. З., Лоран О. Б. Клиническое применение солей и грязей Мертвого моря в лечении хронических заболеваний половых органов у мужчин и женщин. Руководство для врачей. Москва. - 2007 г.
8. Шароваров Г. А., Минюк З. П. Методы реабилитации почв, загрязненных радионуклидами . Минск. – 2007. - С22. – С. 114.
9. Литусов Н. В. Грамположительные аэробные кокки: иллюстрированное учебное пособие. Екатеринбург. – 2016.- с.89.
10. Никитин Е. Б. Микробиология с основами иммунологии //Павлодар: Арман-ПВ. – 2004. – Т. 180.
11. Терехов В. И., Караев Я.М., Когденко Н.В. Антигенный состав и патогенные свойства штаммов *E. coli*, изолированных от телят и поросят в Краснодарском крае //Российский ветеринарный журнал. – 2008. – №. 4.


12. Цуригова З. А., Степанян Л. В., Синчихин С. П. Применение грязелечения при сочетании климактерических расстройств с хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза //Современные тенденции развития науки и технологий. – 2015. – №. 8. – С. 3.
13. Каменская Е. П. Основы санитарной микробиологии: методические рекомендации к лабораторным работам. - Алт. гос. техн. ун-т, БТИ. - Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2016. - 45 с.
14. Дерябин Д. Г. Стафилококки: экология и патогенность. Изд-во: Уральское отделение РАН (Екатеринбург). – 2000. – 238 с.
15. Камышева К.С. Микробиология, основы эпидемиологии и методы микробиологических исследований. Ростов- на- Дону: Феникс, 2010
16. Литусов Н. В. и др. Микрофлора окружающей среды и тела человека //Изд.: Уральская гос. мед. акад. 2008г.–28 с. – 2005.
17. Костюкевич О. И. Влияние кишечной микрофлоры на здоровье человека. От патогенеза к современным методам коррекции дисбиоза //РМЖ. – 2011. – Т. 19. – №. 5. – С. 304-308.
18. Гаспарян С. А., Кальченко Е. С. Современные подходы в лечении климактерического синдрома //Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2011. – Т. 22. – №. 2.
19. Резайкина А. В., Петрова Н. П., Ротанов С. В. Современные лабораторные методы определения безопасности парфюмерно-косметической продукции в системе контроля качества в Российской Федерации //Вестник дерматологии и венерологии. – 2016. – №. 2. – С. 41-46.
20. Ермакова В. П., Позняковский В. М., Комарова Л. Ф. Консерванты и косметика //Ползуновский вестник. – 2008. – №. 3. – С. 267-271.
21. Горленко В.М., Дубинина Г.Л., Кузнецов С.Н. Экология водных микроорганизмов. М.: Наука, 1977. - 289 с.
22. Марченко Л.О. Изучение антимикробных свойств сапропелей Белоруссии и выделение из них микроорганизмов // Проблемы использования сапропелей в народном хозяйстве. - Минск: Наука и техника.- 1976.- С. 109-115.
23. Гаранин О.П. Антибиотическая, протеолитическая и липолитическая активность плесневых грибов и актиномицетов лечебных грязей Красноярского края и Тувы // Актуальные вопросы курортологии. Белокуриха, 1988. С. 239–240.

24. Билянский Ф.М. Биологическая активность веществ микробного происхождения в лечебных грязях // Методики биологических исследований лечебных грязей. Информационно-методический материал. М., 1961–1962. Вып. 4–5. С. 127–133.
25. Плетнев М.Ю. Натуральная косметика: есть ли надежная альтернатива традиционным консервантам. Доклад на форуме «Натуральная косметика: факты, решения, перспективы», 30.09.2011 г. ГК Измайлово, Москва
26. Многофункциональные активные ингредиенты для применения в косметике/ Always Inspiring More, Symrise Presentation, 2010. 57 с.
27. Плетнев М.Ю. Косметико-гигиенические моющие средства. М.: Химия, 1990.- С.168-179.
28. Беликов О.Е., Пучкова Т.В. Консерванты в косметике и средствах гигиены. М.: Школа космет. химиков, 2003.- 250 с.
29. Небольшой путеводитель по натуральной косметике/ Под ред. К. Хюттнер. Ekokosmetika.ru, 2011. – 31с.
30. Плетнев М.Ю. Консерванты. М.: Химия, 2013 г. – 216 с.
31. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 009/2011 «О безопасности парфюмерно-косметической продукции». Утв. 23.09.2011. – 255 с.
32. Сырье и ингредиенты для производства косметики и бытовой химии: консерванты/ ЗАО «Русхимсеть», 16с.
33. Г.Л. Рыжова, К.А. Дычко, В.В. Хасанов, С.А. Богачев, Т.Т. Куряева. Механо-физическая технология переработки природного органического сырья и получения продуктов функционального назначения // Химия растительного сырья. - 2007.- С. 115-116.
34. Круглицкий Н.Н. и др. Ультразвуковая обработка дисперсий глинистых минералов. Киев: Наукова думка, 1971. - 198 с.
35. М.А. Тюнина, К.А. Дычко. Природные ресурсы в XXI веке: экономика, управление и инновации // Рациональное использование и глубокая переработка озерных сапропелей, Томск, 2010 г. – с. 54-59.
36. А.Ш. Бышевский. Способ получения концентрата сапропеля: Патент РФ № 2005478 /А.Ш. Бышевский, А.П. Потапов, С.Б. Гембаржевский и др., 1994 г.
37. Дычко К.А., Рыжова Г.Л., Данекер В.А. Многофункциональное устройство для переработки природного органического сырья в жидкой среде: патент РФ № 97363 , 2010 г.

38. ГОСТ ISO 11930 – 2014 «Продукция косметическая. Микробиология. Оценка антимикробной защиты косметической продукции». Утв. 25.06.2014. – 32с.
39. Ердакова В.П., Позняковский В.М, Комарова Л.Ф. Консерванты и косметика./ В.П. Ердакова, В.М. Позняковский, Л.Ф. Комарова //Ползуновский вестник. – 2008.-№3.- с. 267-271.
40. Людер М., Монжье С., Дешайе К. Гибкий рецептурный подход к созданию средств по уходу за кожей // SOFW-Journal (русская версия). – 2002. – №4.
41. Марковец А. Новые аспекты обеспечения сохранности косметических средств // SOFW-Journal (русская версия). – 2002. – № 4.
42. Уинвуд Р. Натуральные ингредиенты растительного происхождения для косметических применений // SOFW-Journal (русская версия). – 2002. – №3.- с. 15-29.
43. ГОСТ 29188.0-91. Изделия парфюмерно-косметические. Правила приемки, отбора проб, методы органолептических испытаний. – М.: Изд-во стандартов, 1992.
44. Циммер К. Микрокосм: E. coli: новая наука о жизни/ Карл Циммер; Пер. с англ.- 2-ое изд.- М.: Альпина нон-фикшн, 2016.- 394 с.
45. Гусева М.В. Микробиология. – М.: Изд-во Московского университета, 1985.
46. Кочемасова З.Н., Ефремова С.А. Микробиология. – М.: Медицина, 1994.
47. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. – М.: Медицина, 1978.
48. Пучков Е.О. Методы количественного анализа единичных клеток микроорганизмов// Микробиология.-2018.-№ 1.- С.3-18.

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

 Т. Г. Волова

« 5 » июля 2019 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 Биология

**Санитарно-бактериологический анализ лечебных грязей
озера Плахино (Боровое)**

Научный руководитель  проф., д.б.н. С.В. Прудникова

Выпускник  А.А.Середа

Красноярск, 2019