

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

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
_____ Т.Г. Волова
«___» _____ 2022 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Разработка и исследование способов повышения микробиологической
стойкости косметической продукции на основе сапропеля озера Плахино

06.04.01 Биология

06.04.01.01 микробиология и биотехнология

Научный руководитель	_____	проф., д-р биол. наук	С. В. Прудникова
Выпускник	_____		А. А. Серeda
Рецензент	_____	канд. биол. наук	Г. И. Антонов

Красноярск 2022

РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация на тему «Разработка и исследование способов повышения микробиологической стойкости косметической продукции на основе сапропеля озера Плахино» содержит 62 страниц текстового документа, 7 иллюстраций, 11 таблиц, 75 использованных источников.

Ключевые слова: микробиологический контроль, санитарно-бактериологический анализ, сапропель, консерванты.

Цель работы – повышение микробиологической стойкости сапропеля для применения в косметической продукции. В задачи исследования входило: 1) исследование динамики численности микроорганизмов сапропеля озера Плахино на разных сроках хранения (МАФАМ, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, БГКП, дрожжевых и плесневых грибов); 2) исследование влияния температуры хранения сапропеля на численность микроорганизмов; 3) оценка методов консервации для повышения микробиологической стойкости сапропеля при хранении.

Лечебные грязи (сапропель) озера Плахино – высокоэффективный продукт природного происхождения, применяющийся в санаторно-курортном лечении. Для использования лечебных грязей в косметологии необходим контроль безопасности применения такого рода продукции, поскольку присутствие нежелательной микрофлоры – условно-патогенных или патогенных микроорганизмов – может нанести вред здоровью. Исследование показало, что в сапропеле отсутствуют патогенные и условно-патогенные микроорганизмы. Применение в качестве консервантов раствора наночастиц серебра с пероксидом водорода, настойки прополиса или яблочного уксуса подавляло развитие микроорганизмов в сапропеле при хранении до 6 месяцев.

Содержание

Введение	5
Глава 1. Обзор литературы	7
1.1 Характеристика лечебной грязи озера Плахино (Боровое)	7
1.2 Применение лечебной грязи озера Плахино (Боровое) в медицине и косметологии.....	9
1.3 Гигиенические требования к производству и безопасности парфюмерно-косметической продукции	11
1.4 Характеристика условно-патогенных микроорганизмов, определяемых в парфюмерно-косметической продукции.....	13
1.5 Гомогенизация сапропелей для применения в косметической продукции	17
1.6 Консервирование косметической продукции	18
1.6.1 История консервирования природной косметики	18
1.6.2 Консервирование косметики поваренной солью (NaCl).....	20
1.6.3 Консервирование косметики биоцидом (Preventol D2)	21
1.6.4 Консервирование косметики Kemidant L (DMDM Hydantoin).....	21
1.7 Антимикробная активность наночастиц серебра.....	22
1.8 Антимикробная активность эфирных масел	24
1.9 Антимикробная активность прополиса	25
1.10 Антимикробная активность яблочного уксуса.....	26
1.11 Антимикробная активность пероксида водорода.....	26
Глава 2. Объекты и методы исследования	31
2.1 Отбор образцов сапропеля озера Плахино (Боровое).....	31
2.2 Определение количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных бактерий (МАФАМ)	31
2.3 Методы обнаружения санитарно-показательных микроорганизмов ..	32
2.4 Определение количества дрожжей и дрожжеподобных плесневых грибов.....	34
2.5 Пастеризация образцов лечебной грязи	34

<i>2.6 Метод АТФ-биолюминесценции</i>	34
<i>2.7 Консервирование косметической лечебной грязи</i>	37
Глава 3. Результаты	41
Выводы	54
Список использованных источников	55

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].

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, который обладает наибольшей способностью проникать через неповрежденную кожу[2]. 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 парфюмерно-косметической продукции от микробного заражения является консервирование, которое повышает устойчивость продуктов к микробной контаминации в процессе хранения и применения.

Цель работы – разработка и исследование способов повышения микробиологической стойкости для оценки возможности его 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 консервации для повышения микробиологической стойкости лечебных грязей при хранении.

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 среднесольных 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 микроорганизмов - 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 [5]. 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 [4]. 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 [5].

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 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].

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].

Таблица 1 – Количественные показатели микробиологической чистоты

Характеристика	Количество олиготитр	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-	0,009-0,0001	$10^3 - 10^5$	0,01- 0,001

	0,01			
Сильно загрязненная	0 ,009 и ниже	0,00009 и ниже	От 10^5 до 4×10^6	0,0001 и ниже

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].

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 Характеристика условно-патогенных микроорганизмов, определяемых в парфюмерно-косметической продукции

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 *Staphylococcus* 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, унитазаы, 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 заражение 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*) – 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 коли-бактериоз [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 сапропелей 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 феноксипропанол);
- 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, катониев, 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 «Кротейн», 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 бензилгемиформаль 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% монометил-производного и 5% диметилгидантоина. Бактерицидным

действием обладает продукт присоединения одного моля формальдегида – MDMH (структуры II и III):

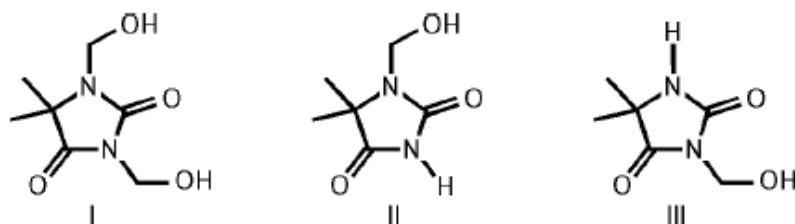


Рисунок 1 – Структура молекулы консерванта (IUPAC):

(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[50].

1.7 Антимикробная активность наночастиц серебра

Серебро является одним из самых сильных естественных антибиотиков. Повышенный интерес к препаратам Ag обусловлен широким спектром его противомикробного действия, отсутствием устойчивости к нему большинства патогенных микроорганизмов [64].

Имеется множество теорий, объясняющих механизм действия серебра на микроорганизмы. Наиболее распространенной является адсорбционная теория, согласно которой клетка теряет жизнеспособность в результате взаимодействия электростатических сил, возникающих между отрицательно

заряженными клетками бактерий и положительно заряженными ионами серебра при адсорбции последних бактериальной клеткой.

Некоторые исследователи объясняют механизм действия серебра физико-химическими процессами, в частности окислением протоплазмы бактерий и ее разрушение кислородом, растворенным в воде, серебро в данном случае выступает катализатором. Тоферн антимикробное олигодинамическое действие серебра объяснял выведением из строя ферментов, содержащих SH- и COOH-группы, а К. Тонли и Н. Вилсон - нарушением осмотического равновесия в клетке [62].

Сообщается об образовании комплексов нуклеиновых кислот с тяжелыми металлами, что вызывает нарушение стабильности ДНК и, соответственно, жизнеспособности бактерий. Существует мнение, что серебро косвенно действует на ДНК клеток, увеличивая количество внутриклеточных свободных радикалов, которые снижают концентрацию внутриклеточных активных соединений кислорода. Допускают, что одной из причин широкого противомикробного действия ионов серебра является ингибция трансмембранного транспорта Na^+ и Ca^{++} , вызываемая серебром [63].

По мнению Б.И. Казакова (1972), механизм действия серебра заключается в инактивации определенных участков молекул ферментов микроорганизмов, то есть серебро действует как ферментативный яд. Также токсическое действие серебра он связывает с его концентрацией.

Таким образом, механизм действия серебра на микробную клетку заключается в том, что ионы серебра сорбируются клеточной оболочкой. Клетка остается жизнеспособной, но при этом нарушаются некоторые ее функции, например деление (бактериостатический эффект). Как только на поверхности микробной клетки сорбируется серебро, оно проникает внутрь клетки и ингибирует ферменты дыхательной цепи, а также разобщает процессы окисления и окислительного фосфорилирования в микробных клетках, в результате чего клетка гибнет [64].

1.8 Антимикробная активность эфирных масел

Эфирные масла – сильно пахнущие, летучие, не растворимые в воде масла, которые могут выделять только растения. Они имеют очень сильное лекарственное и косметическое значение, высокую химическую активность [67].

Бактерицидная активность эфирных масел известна с давних пор. Растительные экстракты и эфирные масла с асептической целью применялись в народной медицине многих стран. Сообщается об бактерицидных свойствах более 1000 видов растений (эвкалипт, чайное дерево, черемуха, шалфей, корица и др.).

В 1955 году Келлер и Кобер доказали эффективность эфирных масел практически против всех микроорганизмов, встречающихся в воздухе. Они выявили 21 эфирное масло, которое обладало способностью снижать численность или вовсе подавлять развитие таких микроорганизмов как *Escherichia coli*, *Eberthella thyphosa*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus megatherium*, *Corynebacterium diptheriae*, *Candida albicans*. Антимикробными (бактерицидными, антисептическими) свойствами обладают такие части растения, как листья эвкалипта, почки тополя, гвоздичное масло, масло сосны, корневища аира. Сильным антимикробным действием обладает масло душицы, которое активно в концентрации 300 мг/л против *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*.

Эфирные масла представляют собой сложную смесь, состоящую из нескольких сот компонентов, об активности которых в отдельности судить очень сложно. Тем не менее известно, что микробы при длительном контакте с эфирными маслами фактически не вырабатывают к ним устойчивости. Если рассмотреть этот вопрос на клеточном уровне, то можно констатировать, что эфирные масла организуют для микробов такую среду обитания, в

которой они не могут нормально развиваться и гибнут, не приспособившись к новым соглашениям [66].

Проникая внутрь, эфирные масла, по-видимому, подвергают деструкции цитоплазматические мембраны микроорганизмов, что приводит к снижению их проницаемости и уменьшению активности аэробного дыхания микроорганизмов [65].

1.9 Антимикробная активность прополиса

Прополис — это продукт пчеловодства, представляющий собой смесь смолистых, фенольных веществ, терпеноидов, воска и других соединений природного происхождения. Благодаря широкому спектру биологической активности соединений, входящих в состав прополиса, лекарственные препараты из него используются современной медициной и ветеринарией. Состав прополиса сложен и полностью не изучен. При контроле качества прополиса используется ряд органолептических показателей (цвет, запах и др.), что не соответствует современным требованиям. По данным некоторых источников, прополис предлагается стандартизовать по минимальной подавляющей концентрации его извлечений относительно микроорганизмов. На одни виды микробов прополис оказывает бактериостатический эффект, на другие — бактерицидный [68].

Прополис проявляет антибактериальные свойства по отношению к большинству стандартных лабораторных штаммов микроорганизмов [69].

К 10%-ному спиртовому экстракту прополиса чувствительными микробными штаммами оказались: *Ps. aeruginosa*, *S. aureus*, *Salmonella typhimurium*, *E. faecalis*, *C. albicans*. Экстракт прополиса 10% концентрации оказывает антимикробное действие как в отношении грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов.

Прополис оказывает бактерицидное действие на штаммы микробов, резистентные к антибиотикам, стимулирует процессы фагоцитоза, снижает общую резистентность организма к тому или иному микробу [69].

1.10 Антимикробная активность яблочного уксуса

Являясь одним из древнейших пищевых продуктов, уксус и в наши дни остается широко востребованным в консервной промышленности, кулинарии, в производстве различных соусов и маринадов. Все производимые в мире уксусы можно отнести к двум основным группам, различающимся происхождением уксусной кислоты, содержащейся в готовом продукте.[70]

Высоким качеством обладают виноградный и фруктовый уксусы, которые получают непосредственно из виноградных или фруктовых (в основном яблочных) виноматериалов путем окисления содержащегося в них этанола уксуснокислыми бактериями в уксусную кислоту. Высокое качество яблочного уксуса обусловлено составом яблочного сока, он имеет более мягкий вкус, приятный аромат и представляет собой продукт, богатый биологически активными веществами. Натуральный уксус содержит кроме уксусной кислоты значительное количество фенольных веществ, органических кислот, альдегидов, эфиров, микроэлементов, переходящих из сырья, а также образующихся в результате жизнедеятельности уксуснокислых бактерий и придающих вкусу гармоничность и полноту аромату [71].

Уксус получают в результате брожения перезрелых плодов в присутствии кислорода и уксусных бактерий. Уксус, благодаря способности останавливать процессы брожения, сохраняет продукты от порчи длительное время. Пища сохраняет при этом приятный вкус и аромат. Антибактериальное и противогрибковое действие яблочного уксуса играет большую роль в поддержании нормальной микрофлоры кишечника [52].

1.11 Антимикробная активность пероксида водорода

Пероксид водорода очень широко применяется, как отбеливающий агент и окислитель. Также он применяется как реактив в рамках синтеза

химических соединений. Разные концентрации пероксида водорода используются для различных целей, например:

- 6% и 3% растворы применяются в косметической и фармацевтической промышленности;
- 30% раствор при осуществлении реакций в условиях лаборатории;
- 50% и 35% растворы применяются в промышленности;
- 70% раствор применяется в ряде реакций окисления органических веществ;
- 90% раствор применяется в промышленности и в качестве ракетного топлива в космических и военных программах.
- Растворы концентрации выше 90 % применяются в особых военных целях [72].

Пероксид водорода также применяется в производстве мягчителей, глицерина, отбеливающих средств, косметики, фармацевтических препаратов, осушителей для масел, восков и жиров, и оксидов амина для домашних моющих средств. Его используют в текстильной промышленности при отбеливании текстиля, в особенности хлопка, в целлюлозно-бумажной промышленности при отбеливании древесных масс. В рамках добывающей промышленности пероксид водорода используют с целью повышения растворимости урана в щелочных растворах [73]. Его также используют для окисления и травления металла в рамках электронной промышленности и при обработке металлических поверхностей. Помимо этого, пероксид водорода – это стерилизующее средство пищевой промышленности и применяется как источник кислорода в оборудовании, которое предохраняет дыхательную систему.

Перекись водорода используется для дезинфекции с начала 20-го века. По настоящий период времени накопилось большое количество работ по ее воздействию на микробные клетки. Но следует подчеркнуть, что работы,

доступные в русском переводе, не содержат информации по детальным электронно-микроскопическим исследованиям воздействия перекиси водорода на ультраструктуру микробов. Потому, перед исследованием взаимодействия новых дезинфектантов и микроорганизмов, особый интерес представляет изучение механизма воздействия перекиси водорода на микробные клетки [74].

Перекись водорода – прозрачная, бесцветная жидкость, имеющая специфический запах, сильный окислитель. В чистом виде это вязкая жидкость ($d=1,45$), смешивается с водой в любом соотношении. Имеет выраженные бактерицидные, спороцидные, фунгицидные свойства. Выпускается в форме 30 – 90 % раствора с добавлением стабилизатора с целью предохранения от разложения. Хранится в полиэтиленовой или стеклянной емкости, закрытой пробкой с отверстием для выхода газа, при температуре не выше 30 °С. Раствор перекиси водорода входит в 3 класс опасности в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 (умеренно опасные вещества) Рабочие растворы являются неустойчивыми и готовятся перед непосредственным использованием. Воздействие перекиси водорода на бактерии целесообразнее демонстрировать на примере *E. coli* штамм К-12. Для исследования воздействия перекиси водорода на структуру бактерий использовалась 18-часовая культура, выращенная на МПБ при 37 °С. К суспензии концентрацией 2×10^8 кл/мл добавляли перекись водорода до достижения концентрации 1,5 %, и инкубировали на протяжении течения 15-60 мин. при комнатной температуре. После действия дезинфектанта на микроорганизмы перекись водорода нейтрализовывалась посредством введения в суспензию гипосульфита концентрацией 1 %. Часть биомассы высевалась в плотную питательную среду для установления доли живых клеток в суспензии, часть суспензии же использовалась при проведении электронно-микроскопических исследований. В ходе исследования клеток *E. coli* в электронном микроскопе до действия препарата было установлено, что микробная популяция включает около 93% клеток интактной

ультраструктуры, другие микробы находятся на разных этапах естественного повреждения, старения и гибели. В условиях кратковременного воздействия 1,5 % перекиси водорода на клетки *E. coli* на протяжении 15 мин почти 80 % микробной популяции получает разные необратимые и обратимые повреждения. Почти 10 % клеток обладает интактной ультраструктурой. Около 5 % клеток плазмолизированы, т.е. наблюдается полное или локальное отслоение оболочки клетки от цитоплазматической мембраны (ЦПМ). У 10 – 15 % микробов имеют место разрывы либо разрушение ЦПМ. Вероятно, перекись водорода первоначально действует на ЦПМ, расширяя периплазматическое пространство и/или разрушая ЦПМ. После чего в микробах наблюдаются вторичные повреждения, связанные с нарушением функций ЦПМ. Данные изменения могут проявляться в виде полной или частичной деструкции нуклеотида и/или цитоплазмы, которые на ультраструктурном уровне проявляются как фрагментация хроматина, разрушение и растворение полисом и рибосом, появление в цитоплазме и в месте нуклеотида электронно-прозрачных зон. Необходимо подчеркнуть, что полученные сведения о степени повреждения ультраструктуры микроорганизмов воздействием перекиси водорода совпадают со сведениями микробиологического контроля живых микроорганизмов в образцах. При более продолжительной обработке перекисью водорода микробной популяции (30 – 60 мин) все микробы получают необратимые или обратимые повреждения. Существенная часть клеток микроорганизмов полностью разрушена или автолизирована [75]

В процессе обработки микробных клеток *E. coli* 1,5 % перекисью водорода уже на ранних этапах воздействия (до 15 мин) основная часть популяции (почти 80 %) повреждается или разрушается. Первичные повреждения, которые вызывает дезинфектант, выявляемые в ходе электронно-микроскопического исследования, происходят на уровне мембранного аппарата.

Для грамотрицательных бактерий первое соприкосновение клетки и молекул дезинфектанта осуществляется на поверхности наружной мембраны. Химически самыми реакционноспособными при взаимодействии с перекисью водорода являются белки, в особенности сульфгидрильные группы, а также нуклеиновые кислоты (которые отсутствуют во внешней мембране). Между тем повреждение наружной мембраны не летально для бактериальной клетки. Непрореагировавшие молекулы дезинфектанта проходят через гидрофильные поры внешней мембраны в периплазматическое пространство, в котором могут вступать в реакцию с пептидной частью муреинового каркаса и присутствующими там ферментами. Повреждения данных компонентов также не заканчиваются летальным исходом. Преодолев периплазматическое пространство, перекись водорода попадает на цитоплазматическую мембрану, а ее повреждение может вызвать гибель клетки. Белками составлена значительная часть ЦПМ, они выполняют разные ферментативные и транспортные функции. С ЦПМ так же связана и система клеточной репликации. Окисление транспортных белков обуславливает нарушение барьерных функций ЦПМ и утечку компонентов ее в периплазматическое пространство, что подтверждают биохимические исследования, а также дает возможность перекиси водорода попадать в клетку. Взаимодействие перекиси водорода и ферментов приводит к инактивации последних. Последующее взаимодействие дезинфектанта и компонентов мембран, например, окисление жирнокислотных ненасыщенных компонентов липидов по двойным связям, приводит к ее деструкции. Для прошедших через ЦПМ молекул перекиси водорода открывается доступ к цитоплазматическим белкам и нуклеиновым кислотам, ДНК и РНК. Взаимодействие с ними вызывает полную гибель клетки и видимые изменения ультраструктуры нуклеотида и цитоплазмы[71].

Глава 2. Объекты и методы исследования

Объектом исследования была сапропель, 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.

2.1 Отбор образцов сапропеля 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 (Nutrientagar, 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 (Рис.2)[19].

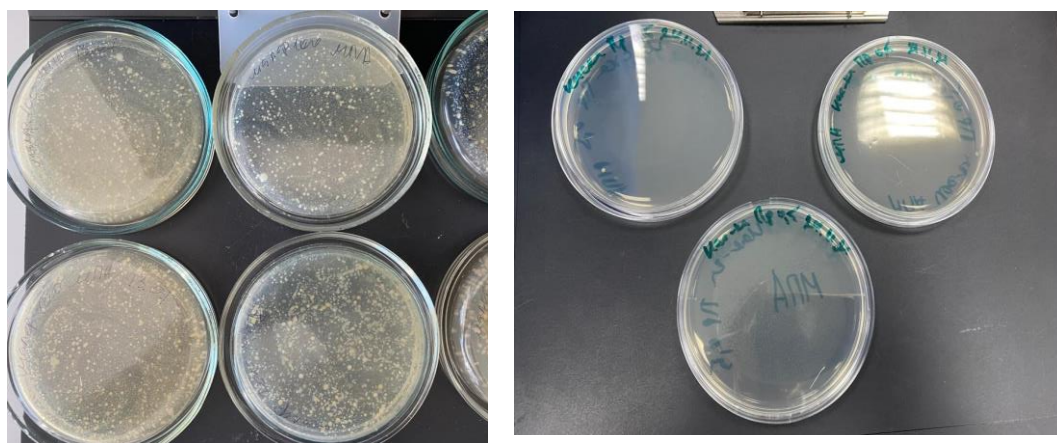


Рисунок 2 – Санитарно-бактериологический анализ лечебных грязей озера Плахино после гомогенизации. Определение количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных бактерий.

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] (Рис.3).

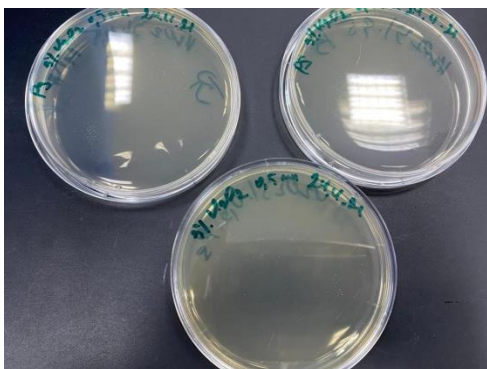


Рисунок 3 - Санитарно-бактериологический анализ лечебных грязей озера Плахино после гомогенизации. Определение санитарно – показательных микроорганизмов *P. Aeuruginosa*.

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 °С, разлить в чашки Петри. После посева чашки помещали в термостат при 37 °С на сутки (Рис. 4). [17].

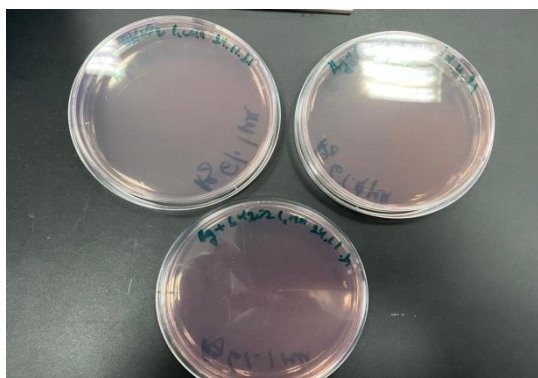


Рисунок 4 - Санитарно-бактериологический анализ лечебных грязей озера Плахино после гомогенизации. Определение санитарно – показательных микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*.

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) °С. Среду охлаждали до температуры $(47,5 \pm 2,5)$ °С, разливали по (25 ± 5) см³ в стерильные чашки Петри. После посева помещали в термостат при 37 °С, на следующий день доставали и еще 2-3 дня растили при комнатной температуре [48].

2.5 Пастеризация образцов лечебной грязи

Пастеризацию образцов лечебной грязи проводили на водяной бане при температуре 60°С 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°С, высевая на питательные среды.

2.6 Метод АТФ-биолюминесценции

В европейских странах, США и Японии для контроля биологической чистоты на эпидемиологически значимых объектах широко используется АТФ-люминометрия. Метод нашел применение в пищевой промышленности, на предприятиях общественного питания, в медицинских организациях [54].

Люминометр – это прибор, предназначенный для оперативного гигиенического мониторинга в различных отраслях промышленности, в первую очередь, на пищевом производстве, а также в медицине, сельском хозяйстве, в косметической промышленности - там, где требуется быстрая оценка степени микробиологической безопасности поверхностей

оборудования, инструментов, рук персонала, воды и технологических жидкостей [58].

АТФ-люминометрия — технология, позволяющая определить степень биологического загрязнения поверхности или жидкости. Этот современный метод контроля гигиены основан на быстром выявлении молекул аденозинтрифосфат (АТФ). АТФ — это энергетическая молекула, которая обеспечивает клеточный метаболизм и является компонентом всех живых клеток. Остатки продукции, в частности пищевые продукты, также содержат большое количество молекул АТФ. Соответственно, после проведенной санитарной обработки технологического оборудования содержание всех источников загрязнения в виде молекул АТФ (микробной и продуктовой природы) должно быть минимально [51].

Биолюминесценция – способность живых микроорганизмов выделять энергию в форме света. Все растительные, животные и бактериальные клетки, дрожжи и плесень, содержат аденозинтрифосфат (АТФ). При контакте АТФ с ферментами люциферин/люцифераза происходит выделение света [56].

При взаимодействии АТФ с ферментами люциферин или люциферазой происходит реакция биолюминесценции (свечения), на чем построен принцип действия люминометра. Фотоны света, испускаемые при биолюминесценции, улавливаются датчиком прибора и количественно оцениваются в относительных световых единицах, обозначаемых как RLU, позволяющих определять степень биологического загрязнения образца [57]. Для получения исследуемого образца применяются специальные АТФ-тесты, которые представляют собой стерильные пробирки с реагентом и предувлажненными тампонами или щетками [50].

Люминометры представляют собой устройства, комплектуемые специально созданными пробирками, для определения общей биологической чистоты поверхностей путем количественного определения АТФ на основе явления биолюминесценции [61]. Под влиянием фермента люциферазы

присутствующая в пробе АТФ ускоряет окисление кислородом особого пептида люциферина, т. е. выделяются кванты света. Данная химическая реакция сопровождается эмиссией света, фотоны которого улавливаются датчиком прибора, а общее количество АТФ, как микробного, так и немикробного происхождения, выражается в относительных световых единицах (RLU, от англ. *relativelightunits*). Количество света, образующегося в реакции биolumинесценции, прямо пропорционально количеству АТФ в образце [60]. Реакция происходит немедленно, что позволяет получать результаты в реальном времени, повышая оперативность получения информации (Clark DP) (рис.5):

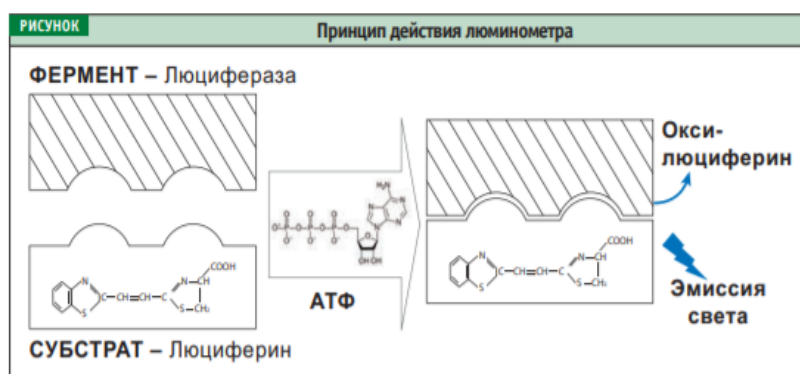
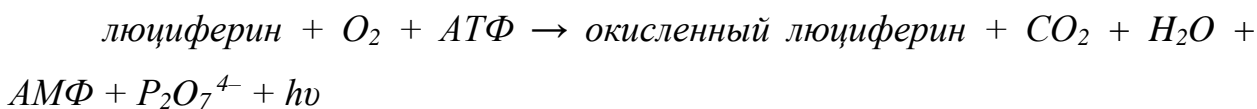


Рисунок 5 – Принцип действия люминометра

Ход работы. Исследуемый образец лечебной грязи в количестве 1 г растворили в 100 мл воды. MicroSnap (резервуар для отбора исследуемой пробы) – опустили в исследуемую жидкость на 10-15 сек, затем закрыли пробник, надломили клапан, выдавили реагент, встряхнули и поставили в термостат на 7 часов, затем опустили в люминометр (EnSURE). Через 15 секунд получили результат (рис.6)



Рисунок 6 – Принцип проведения замеров люминометром

2.7 Консервирование косметической лечебной грязи

Консервирование образцов косметической лечебной грязи проводили с добавлением следующих консервантов:

- NaCl х.ч;
- Kemidant L (ДМДМ гидантоин) (100%) Химсейл, Красноярск, производитель «Акема», Римини, Италия;
- Preventol D2 (100%) Химсэйл, Красноярск, производитель Германия;
- раствор наночастиц серебра (1 мг/л) с пероксидом водорода (6% H_2O_2), получен в Институте ядерной физики Академии наук Республики Узбекистан;
- раствор наночастиц серебра (1 мг/л) с пероксидом водорода (3% H_2O_2) и ацетилсалициловой кислотой, получен в Институте ядерной физики Академии наук Республики Узбекистан;
- эфирное масло чайного дерева (100%), производитель ООО «Бизнесойл» РФ, г. Москва
- эфирное масло шалфея (100%), производитель ООО «ОЛЕОС», РФ г.Подольск, Московская область
- настойка прополиса (20%), производитель ООО «БЭГРИФ» , РФ, г. Бердск, Новосибирская область

– яблочный уксус (6%), производитель ООО «Пищехимпродукт», РФ, г. Нижний Новгород

Консерванты добавляли после гомогенизации. Образцы оставляли при комнатной температуре или в холодильнике (4 °С).

Способ 1. Консервант Kemidant L (ДМДМ гидантоин) вносили в образцы лечебной грязи в концентрации 0,15%. Пастеризацию не проводили. Образцы выдерживали при температуре 25°С. Микробиологическую стойкость проверяли через сутки и через 30 дней хранения

Способ 2. Консервант Preventol D2 вносили в образцы лечебной грязи в концентрации 0,15%. Пастеризацию не проводили. Образцы выдерживали при температуре 25°С. Микробиологическую стойкость проверяли через сутки и через 30 дней хранения.

Способ 3. В качестве консерванта использовали поваренную соль (NaCl). Консервант вносили в образцы лечебной грязи в количестве 0,5 и 1,0 г на 10 мл. Пастеризацию не проводили. Исследуемые образцы хранили в холодильнике при температуре 4°С. Микробиологическую стойкость проверяли через 5, 30 и 90 дней. После проведения пастеризации микробиологическую стойкость проверяли через 5, 30, 90 и 180 дней.

Способ 4. В качестве консерванта использовали серебро с 6% пероксидом водорода (6% H₂O₂). Консервант вносили в образцы лечебной грязи в количестве 0,5 и 1,0 мл на 10 мл. Пастеризацию не проводили. Исследуемые образцы хранили в холодильнике при температуре 4°С. Микробиологическую стойкость проверяли через 5, 30 и 90 дней. После проведения пастеризации микробиологическую стойкость проверяли через 5, 30, 90 и 180 дней.

Способ 5. В качестве консерванта использовали серебро с 3% перекисью водорода (3% H₂O₂) и ацетилсалициловой кислотой. Консервант вносили в образцы лечебной грязи в количестве 0,5 и 1,0 мл на 10 мл. Пастеризацию не проводили. Исследуемые образцы хранили в холодильнике

при температуре 4°C. Микробиологическую стойкость проверяли через 5, 30 и 90 дней. После проведения пастеризации микробиологическую стойкость проверяли через 5, 30, 90 и 180 дней.

Способ 6. В качестве консерванта использовали эфирное масло чайного дерева. Консервант вносили в образцы лечебной грязи в количестве 100 и 200 мкл на 10 мл. Пастеризацию не проводили. Исследуемые образцы хранили в холодильнике при температуре 4°C. Микробиологическую стойкость проверяли через 5, 30 и 90 дней. После проведения пастеризации микробиологическую стойкость проверяли через 5, 30, 90 и 180 дней.

Способ 7. В качестве консерванта использовали эфирное масло шалфея. Консервант вносили в образцы лечебной грязи в количестве 100 и 200 мкл на 10 мл. Пастеризацию не проводили. Исследуемые образцы хранили в холодильнике при температуре 4°C. Микробиологическую стойкость проверяли через 5, 30 и 90 дней. После проведения пастеризации микробиологическую стойкость проверяли через 5, 30, 90 и 180 дней.

Способ 8. В качестве консерванта использовали настойку прополиса. Консервант вносили в образцы лечебной грязи в количестве 0,5 и 1,0 мл на 10 мл. Пастеризацию не проводили. Исследуемые образцы хранили в холодильнике при температуре 4°C. Микробиологическую стойкость проверяли через 5, 30 и 90 дней. После проведения пастеризации микробиологическую стойкость проверяли через 5, 30, 90 и 180 дней.

Способ 9. В качестве консерванта использовали яблочный уксус. Консервант вносили в образцы лечебной грязи в количестве 0,5 и 1,0 мл на 10 мл. Исследуемые образцы хранили в холодильнике при температуре 4°C. Микробиологическую стойкость проверяли через 5, 30 и 90 дней. После проведения пастеризации микробиологическую стойкость проверяли через 5, 30, 90 и 180 дней.

Способ 10. В качестве консерванта использовали пероксид водорода 3%. Консервант вносили в образцы лечебной грязи в количестве 0,5 и 1,0 мл

на 10 мл. Проводили пастеризацию. Исследуемые образцы хранили в холодильнике при температуре 4°C. Микробиологическую стойкость проверяли через 5, 30, 90 и 180 дней.

Глава 3. Результаты

Изъяты страницы 41-53 в связи с авторскими правами

Выводы

1. Ни в одном из исследованных образцов сапропеля озера Плахино (Боровое) условно-патогенные бактерии *Escherichia coli* и БГКП, и *Pseudomonas aeruginosa* обнаружены не были.

2. Эфирные масла шалфея и чайного дерева оказались неэффективными консервантами для подавления роста микроорганизмов в образцах сапропеля.

3. Наиболее эффективными консервантами для подавления роста микроорганизмов в непастеризованных образцах сапропеля оказались NaCl (1,0 г/мл), раствор наночастиц серебра с H₂O₂ 6% (50 и 100 мкл/мл), раствор наночастиц серебра с H₂O₂ 3% и ацетилсалициловой кислотой (100 мкл/мл), настойка прополиса 20% (50 и 100 мкл/мл), яблочный уксус 6% (100 мкл/мл).

4. В образцах сапропеля после пастеризации наиболее эффективно сдерживали рост микроорганизмов раствор наночастиц серебра с H₂O₂ 3% и ацетилсалициловой кислотой (100 мкл/мл), настойка прополиса 20% (100 мкл/мл) и яблочный уксус 6% (100 мкл/мл). В течение 6 месяцев экспозиции численность МАФАМ была ниже допустимых значений.

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 //Болота и биосфера: Материалы VII Всероссийской с международным участием научной школы (13-15 сентября 2010 г., Томск). – Томск: Изд-во Томского гос. пед. ун-та, 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. – С. 51-64
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. – С. 28-31
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.

8. Шароваров Г. А., Минюк З. П. Методы реабилитации почв, загрязненных радионуклидами. Минск. – 2007. – 114 с.
9. Литусов Н. В. Грамположительные аэробные кокки: иллюстрированное учебное пособие. Екатеринбург: Уральская гос. мед. акад., – 2016. – 89 с.
10. Никитин Е. Б. Микробиология с основами иммунологии. Павлодар: Арман-ПВ. – 2004. – 180 с.
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. – С. 34-57
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. Дерябин Д. Г. Стафилококки: экология и патогенность/ Дерябин Д. Г.//Микробиология. – 2000. – С 29
14. Камышева К.С. Микробиология, основы эпидемиологии и методы микробиологических исследований. – М.: Феникс, 2016 – 346 с.
15. Литусов Н.В., Сергеев А.Г., Григорьева Ю.В., Ишутинова В.Г. Микрофлора окружающей среды и тела человека. – Екатеринбург: Уральская гос. мед. акад., 2008. – 28 с.
16. Костюкевич О. И. Влияние кишечной микрофлоры на здоровье человека. От патогенеза к современным методам коррекции дисбиоза //РМЖ. – 2011. – Т. 19. – №. 5. – С. 304-308.
17. Гаспарян С. А., Кальченко Е. С. Современные подходы в лечении климактерического синдрома //Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2011. – Т. 22. – №. 2.
18. 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.

19. Ермакова В. П., Позняковский В. М., Комарова Л. Ф. Консерванты и косметика // Ползуновский вестник. – 2008. – №. 3. – С. 267-271.

20. Горленко В.М., Дубинина Г.Л., Кузнецов С.Н. Экология водных микроорганизмов. – М.: Наука, 1977. – 289 с.

21. Марченко Л.О. Изучение антимикробных свойств сапропелей Белоруссии и выделение из них микроорганизмов / Марченко Л.О. // Народное хозяйство. - 1976. – Минск - С. 43–48.

22. Гаранин О.П. Антиотическая, протеолитическая и липолитическая активность плесневых грибов и актиномицетов лечебных грязей Красноярского края и Тувы // Актуальные вопросы курортологии. Белокураха, 1988. – С. 239-240.

23. 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.

24. Плетнев М.Ю. Натуральная косметика: есть ли надежная альтернатива традиционным консервантам // Форум «Натуральная косметика: факты, решения, перспективы», 30.09.2011 г. ГК Измайлово, Москва.

25. Плетнев М.Ю. Косметико-гигиенические моющие средства. – М.: Химия, 1990. – С.168-179.

26. Беликов О.Е., Пучкова Т.В. Консерванты в косметике и средствах гигиены. – М.: Школа космет. химиков, 2003. – 250 с.

27. Хюттнер К.Т. Небольшой путеводитель по натуральной косметике/ Хюттнер К.Т.// Экокосметика. - 2011. – 31с.

28. Плетнев М.Ю. Консерванты. – М.: Химия, 2013. – 216 с.

29. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 009/2011 «О безопасности парфюмерно-косметической продукции». Утв. 23.09.2011. – 255 с.
30. В.А. Вольков Сырье и ингредиенты для производства косметики и бытовой химии: консерванты/ В.А. Вольков //Сырье и упаковка. – 2017. – июль - С.16
31. Рыжова Г.Л., Дычко К.А., Хасанов В.В., Богачев С.А., Куряева Т.Т. Механо-физическая технология переработки природного органического сырья и получения продуктов функционального назначения //Химия растительного сырья, 2007. – № 2. – С. 115-116.
32. Круглицкий Н.Н. и др. Ультразвуковая обработка дисперсий глинистых минералов. – Киев: Наукова думка, 1971. – 198 с.
33. Тюнина М.А., Дычко К.А. Природные ресурсы в XXI веке: экономика, управление и инновации // Рациональное использование и глубокая переработка озерных сапропелей, Томск, 2010 г. – с. 54-59.
34. Бышевский А.Ш. Способ получения концентрата сапропеля: патент РФ № 2005478 /А.Ш. Бышевский, А.П. Потапов, С.Б. Гембаржевский и др., 1994 г.
35. Дычко К.А., Рыжова Г.Л., Данекер В.А. Многофункциональное устройство для переработки природного органического сырья в жидкой среде: патент РФ № 97363, 2010 г.
36. ГОСТ ISO 11930 – 2014 «Продукция косметическая. Микробиология. Оценка антимикробной защиты косметической продукции». Утв. 25.06.2014. – 32с.
37. Ермакова В.П., Позняковский В.М, Комарова Л.Ф. Консерванты и косметика // Ползуновский вестник. – 2008. – № 3. – С. 267-271.
38. Людер М., Монжье С., Дешайе К. Гибкий рецептурный подход к созданию средств по уходу за кожей // SOFW-Journal (русская версия). – 2002. – №4. – С. 15-17

39. Марковец А. Новые аспекты обеспечения сохранности косметических средств // SOFW-Journal (русская версия). – 2002. – № 4. – С. 24-29
40. Уинвуд Р. Натуральные ингредиенты растительного происхождения для косметических применений // SOFW-Journal (русская версия). – 2002. – № 3. – С. 15-29.
41. ГОСТ 29188.0-91. Изделия парфюмерно-косметические. Правила приемки, отбора проб, методы органолептических испытаний. – М.: Изд-во стандартов, 1992.
42. Циммер К. Микрокосм: *E. coli*: новая наука о жизни. Пер. с англ. – 2-ое изд. – М.: Альпина нон-фикшн, 2016. – 394 с.
43. Микробиология: Учебник для студ. биол. специальностей вузов / М. В. Гусев, Л. А. Минеева. 4-е изд., стер. – М.: Изд-во Московского университета, 1985. – 465 с.
44. Клыченков С.В., Кручинина А.Д. Антибактериальные свойства продуктов пчеловодства/ Клыченков С.В., Кручинина А.Д.// Сборник статей XII международной научно-практической конференции – Москва, 2017. – 22-24
45. Микробиология: учебник / З. Н. Кочемасова, С. А. Ефремова, Ю. С. Набоков. – М.: Медицина, 1984. – 352 с.
46. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. – М.: Медицина, 1978. – 287 с.
47. Пучков Е.О. Методы количественного анализа единичных клеток микроорганизмов// Микробиология. – 2018. – № 1. – С. 3-18.
48. Люминометр SistemSURE Plus прибор для мониторинга гигиена [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://ecointech.com/product/lyuminometr-systemsure-plus-pribor-dlya-monitoringa-gigieny/>
49. Люминометры [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://novapribor.ru/catalog/monitoring_gigieny/lyuminometry/

50. HY-LiTE - Люминометр. АТФ мониторинг [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.mibio.ru/contents.php?id=118>
51. Севодина К. В. Уксусы из пищевого сырья: классификация, современный ассортимент, потребительские свойства, производство, фальсификация, идентификация и экспертиза качества. – Бийск: Изд-во Алтайского гос. техн. ун-та имени И. И. Ползунова, 2014. – 158 с.
52. ATP Cleaning Verification System. System Implementation Guide for Healthcare [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://www.hygiene.com>.
53. Endoscopy Guide [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://www.hygiene.com>.
54. Monitoring Hand Hygiene Using the Hygiene ATP Cleaning Verification System [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.hygiene.com>.
55. Дубель Е.В. О применении АТФ-люминометров в медицинских организациях // Записки главного врача. – 2018. – № 3. – С. 40-46.
56. Малушкин С.С. Salmonella/ Малушкин С.С. // РАБОС Интл. – 2020 . – С. 21-23
57. Саперкин Н.В., Благоданова Ф.С., Чанышева Р.Ф. Мониторинг качества уборок в медицинских организациях с помощью люминометра // Ремедиум Приволжье. – 2017. – №1. – С. 38-41.
58. Дубель Е. В. Как главной медсестре за 15 секунд оценить качество обработки поверхности // Санэпидемиологический журнал. – 2018. – № 1. – С. 48-56.
59. Дубель Е. В. АТФ-люметрирование в практическом здравоохранении // Санэпидемконтроль – охрана труда. - 2017. – № 6. – С. 121-128.
60. Sondi I., Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as an antimicrobial agent: a case study of *E. coli* as a model of Gram-negative bacteria // Journal of Colloid and Interface Science. – 2004. – № 275. – P. 177-182.


61. Kim S. E., Kim J.E., Lee J.C., Yoon J.Y. The biocidal activity of nano-sized silver particles comparing with silver ion // Journal of Korean Society of Environmental Engineers. – 2005. – Vol. 27(7). – P. 771-776.
62. Синтез и использование наночастиц серебра для придания текстильным материалам бактерицидных свойств/А.Д. Дмитриева, В.А. Кузьмиченко, Л.С. Одинцова, О.И. Одинцова//Химия и химическая технология. – 2015. – №8. – С.67-70
63. Raghunath A., Perumal E. Metal oxide nanoparticles as antimicrobial agents: a promise for the future // International Journal of Antimicrobial Agents. – 2017. – Vol. 49(2). – P. 137-152.
64. Тырков А.Г., Сухенко Л.Т., Акмаев Э.Р. Антимикробная активность эфирных масел, выделенных из растений астраханского региона// Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2012. – № 2. – С. 57-59.
65. Струкова Е.Г., Ефремов А.А., Соколова Л.С. Воздействие эфирных масел сибирского региона на условно-патогенные микроорганизмы // Химия растительного сырья. – 2009. – № 4. – С. 79-82.
66. Войткевич С.А. Эфирные масла для парфюмерии и ароматерапии. – М.: Пищевая промышленность, 1994. – 284 с.
67. Данилина Е.А., Кравцов Э.Г., Бабаева Е.Ю. Изучение антимикробной активности прополиса// Вестник РУДН, серия Медицина. – 2014. - № 4. – С. 68-73.
68. Якимова Т. Антибактериальные свойства некоторых продуктов пчеловодства // Биология. – 2007. – № 1. – С. 40-43.
69. Александров Ю. С., Данилова Л. Н. Бактерицидные свойства прополиса // Прополис. – Бухарест: Апимондия, 1975. – С. 21-24.
70. Панасюк А. Л., Кузьмина Е. И., Борисова А. Л. Новое направление в производстве пищевого уксуса// Пищевая промышленность. – 2017. - № 7. – С. 58-60.

71. Определитель бактерий Берджи: в 2-х томах. Т.1. – М.: Мир, 1997. – 432с.
72. Ball R., Brindley J. The life story of hydrogen peroxide II: a periodic pH and thermochemical drive for the RNA world // Journal of the royal society interface. – 2015. – Vol. 12(109). – P. 20150366.
73. Ball R., Brindley J., Soc J. R. Hydrogen peroxide thermochemical oscillator as driver for primordial RNA replication // Interface. – 2014. – V.11. – P. 1052-1077.
74. Сидоренко О. Д. Микробиология: учебник. – М.: Инфра-М, 2017. – 29 с.
75. Просеков, А.Ю. Общая биология и микробиология: учебное пособие / А.Ю. Просеков. – СПб.: Просп. Науки, 2012. – 320 с.

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

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

 Т.Г. Волова




«24» июня 2022 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Разработка и исследование способов повышения микробиологической
стойкости косметической продукции на основе сапропеля озера Плахино

06.04.01 Биология

06.04.01.01 микробиология и биотехнология

Научный руководитель		проф., д-р биол. наук	С. В. Прудникова
Выпускник			А. А. Серeda
Рецензент		канд. биол. наук	Г. И. Антонов

Красноярск 2022