

Убогов Сергій Геннадійович — кандидат фармацевтичних наук, доцент, доцент кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика. Адреса: м. Київ, вул. Дорогожицька, 9, тел.: (044) 205-49-69.

УДК 615.322+582.688.3

ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ЧИСТОТИ ФІТОСУБСТАНЦІЙ ТА ГРАНУЛ З ПЛОДІВ ЖУРАВЛИНИ БОЛОТНОЇ

К. М. Яцюк, М. І. Федоровська, Р. В. Куцик

**Івано-Франківський національний медичний університет,
м. Івано-Франківськ**

Вступ. Збереження мікробіологічної чистоти протягом терміну зберігання та застосування є важливою вимогою, що висувається до фітосубстанцій та засобів рослинного походження, що застосовуються у медицині.

Мета. Вивчення мікробіологічної чистоти свіжовиготовлених зразків фітосубстанцій та гранул з плодів журавлини болотної та в процесі їх зберігання при температурі $4 \pm 2^\circ\text{C}$ і $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Матеріали і методи. Загальний вміст бактерій та грибків, а також наявність бактерій родин Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa визначали за методикою ДФУ 2-ге видання.

Результати. Встановлено, що у жмиху з плодів журавлини болотної одержаному різними методами висушування та його зразках, що зберігалися протягом 2-ох років при температурі $4 \pm 2^\circ\text{C}$ і $20 \pm 2^\circ\text{C}$, загальна кількість мікроорганізмів не перевищувала 50, а загальна кількість грибків не перевищувала 20 монокультур. Мікробіологічна чистота згущеного соку становила не більше 115 бактерій та 10 грибків. Кількість мікроорганізмів та грибків у пробах гранул не перевищувала 170 та 50 монокультур відповідно. Росту ентеробактерій (Enterobacteriaceae),

ФАРМАЦІЯ

золотистого стафілококу (*Staphylococcus aureus*) та синьогнійної палички (*Pseudomonas aeruginosa*) не виявлено у жодному з досліджуваних зразків.

Висновки. Результати досліджень підтверджують, що жмих одержаний різними методами сушіння, згущений сік з плодів журавлини болотної та гранули на його основі за рівнем мікробіологічного забруднення відповідають вимогам Державної Фармакопеї України, що стосуються препаратів для внутрішнього застосування.

Ключові слова: мікробіологічна чистота, жмих, згущений сік, гранули, журавлини болотна.

Вступ. Розширення асортименту вітчизняних фітопрепаратів для профілактики та лікування інфекцій сечовивідної системи є актуальним завданням сучасної фармації [2]. Однією з місцевих рослин, що здавна застосовується при даній патології є журавлина болотна [3,4,5]. Нами розроблено фітосубстанції (згущений сік та жмих) з плодів журавлини болотної та гранули на основі згущеного соку.

Важливою вимогою до одержаних субстанцій та препарату, що забезпечується завдяки дотриманню санітарно-гігієнічних вимог в процесі виробництва та зберігання є мікробіологічна стабільність. Дану величину перевіряють за допустимою кількістю мікроорганізмів в 1 г препарату, тобто за показником мікробіологічної чистоти (МЧ). Для препаратів рослинного походження, контроль за МЧ є особливо важливим, адже, рослинна сировина є потенційним джерелом для розвитку мікроорганізмів.

Мета. Вивчення МЧ свіжовиготовлених зразків фітосубстанцій та гранул з плодів журавлини болотної та в процесі їх зберігання при температурі $4 \pm 2^\circ\text{C}$ і $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Матеріали та методи дослідження. Для вивчення мікробіологічної чистоти досліджуваних зразків використовували методикку Державної фармакопеї України (ДФУ) 2-го видання [1]. Для експерименту було виготовлено по п'ять зразків кожної фітосубстанції жмиху одержаного різними методами висушування та гранул на основі згущеного соку журавлини болотної, гуарової камеді та глюкози чи лактози закладено

їх на зберігання в скляних банках з щільно закритими кришками при температурі $4 \pm 2^\circ\text{C}$ і $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Фітосубстанцію згущеного соку з плодів журавлини болотної зберігали лише в скляній щільно закритій тарі у холодильнику при температурі $4 \pm 2^\circ\text{C}$. Визначення МЧ проводили кожні 6 місяців протягом 2-ох років.

Згідно вимог ДФУ в лікарських формах для внутрішнього застосування (3-тя категорія) допускається в 1 г (мл) загальна кількість життєздатних аеробних мікроорганізмів не більше 10^3 бактерій і 10^2 грибів (пліснявих і дріжджових сумарно). Не допускається ріст ентеробактерій (*Enterobacteriaceae*), золотистого стафілококу (*Staphylococcus aureus*) та синьогнійної палички (*Pseudomonas aeruginosa*).

Дослідження проводили методом прямого посіву. Було використано поживні середовища: № 1 для вирощування бактерій, № 2 (агар Сабура) — для грибів, № 3 та № 4 — для ентеробактерій, № 8 та № 10 — для золотистого стафілококу, № 8 та № 9 — для синьогнійної палички [1].

Для проведення дослідження зразки згущеного соку, змивів та гранул у кількості 10 грам розчиняли, суспендували у фосфатному буферному розчині рН = 7,0 таким чином, щоб кінцевий об'єм суспензії був 100 мл.

Поживне середовище № 1 заливали у чашки Петрі діаметром 90 мм і залишали застигати. По 1 мл досліджуваного розчину вносили у дві пробірки з 4 мл розплавленого і охолодженого до температури $45 \pm 5^\circ\text{C}$ середовища № 1, швидко перемішували і переносили у чашки Петрі, рівномірно розподіляючи по поверхні. Застигші зразки 5 днів інкубували в термостаті при температурі $32,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$. Після чого підраховували число колоній, що вирости на кожній чашці (для кожного зразка фітосубстанцій чи гранул використовували 10 чашок Петрі), визначали середнє арифметичне, множили на показник розведення і розраховували число бактерій в 1 г досліджуваного зразка.

Дослідження наявності грибів і дріжджів здійснювали аналогічно, при цьому використовували поживне середовище № 2, інкубацію посівів проводили при температурі $22,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$ протягом 5 діб.

ФАРМАЦІЯ

Визначення наявності бактерій родини Enterobacteriaceae проводили додаючи 10 мл приготовленого розведення до 90 мл рідкого середовища № 3, витримуючи його 24 години при температурі $35\pm 37^{\circ}\text{C}$. Після інкубації робили пересівання в чашки Петрі з щільним середовищем № 4 й посіви витримували 3 доби при температурі $35\pm 37^{\circ}\text{C}$. Після інкубації спостерігали наявність або відсутність росту круглих малинових з металевим блиском чи без нього колоній діаметром від 2 до 4 мм.

Присутність *Staphylococcus aureus* та *Pseudomonas aeruginosa* визначали додаючи 10 мл виготовленого розведення до 90 мл рідкого поживного середовища № 8, гомогенізуючи й витримуючи 24 год. При температурі $35 \pm 37^{\circ}\text{C}$. Після інкубації робили пересіви на чашки Петрі з щільними поживними середовищами № 9 та № 10, витримували їх в термостаті 2 доби при температурі $35 \pm 37^{\circ}\text{C}$. Після інкубації спостерігали наявність або відсутність росту зеленуватих колоній на середовищі № 9 і золотаво-жовтих колоній, оточених жовтими зонами, на середовищі № 10.

Результати. Результати досліджень представлені в таблицях 1, 2 і 3.

Встановлено, що у жмиху з плодів журавлини болотної одержаному різними методами висушування та його зразках, що зберігалися протягом 2-ох років при температурі $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ і $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, загальна кількість мікроорганізмів не перевищувала 50, а загальна кількість грибків не перевищувала 20 монокультур. Мікробіологічна чистота згущеного соку становила не більше 115 бактерій та 10 грибків. Кількість мікроорганізмів та грибків у пробах гранул не перевищувала 170 та 50 монокультур відповідно. Росту ентеробактерій (Enterobacteriaceae), золотистого стафілококу (*Staphylococcus aureus*) та синьогнійної палички (*Pseudomonas aeruginosa*) не виявлено у жодному з досліджуваних зразків.

Таблиця 1

Результати дослідження мікробіологічної чистоти жмиху з плодів журавлини болотної.

Час зберігання при темп. 4 ± 2°С і 20 ± 2°С	Жмих з плодів журавлини болотної													
	Висушування в сушильній шафі				Люфільне сушіння				Сушіння в мікрохвильовій печі					
	Загальна кількість мікроорганізмів в 1 г препарату		Наявність бактерій родини		Загальна кількість мікроорганізмів в 1 г препарату		Наявність бактерій родини		Загальна кількість мікроорганізмів в 1 г препарату		Наявність бактерій родини			
Бактерії	Гриби	Enterobact.	S. aureus	P. aerug.	Бактерії	Гриби	Enterobact.	S. aureus	P. aerug.	Бактерії	Гриби	Enterobact.	S. aureus	P. aerug.
Норми	10 ³	10 ²	Недопустимі	Недопустимі	Недопустимі	10 ³	10 ²	Недопустимі	Недопустимі	10 ³	10 ²	Недопустимі	Недопустимі	Недопустимі
Свіжовиготовлена фітосубстанція	10	<10	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній	10	<10	Ріст відсутній	Ріст відсутній	40	<10	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
6 міс. зберігання	10	<10	-/-	-/-	-/-	10	<10	-/-	-/-	40	<10	-/-	-/-	-/-
12 міс. зберігання	20	<10	-/-	-/-	-/-	20	<10	-/-	-/-	40	<10	-/-	-/-	-/-
18 міс. зберігання	10	<10	-/-	-/-	-/-	10	<10	-/-	-/-	40	<10	-/-	-/-	-/-
24 міс. зберігання	20	<10	-/-	-/-	-/-	20	<10	-/-	-/-	40	<10	-/-	-/-	-/-
	10	10	-/-	-/-	-/-	10	10	-/-	-/-	40	10	-/-	-/-	-/-
	20	10	-/-	-/-	-/-	30	10	-/-	-/-	50	10	-/-	-/-	-/-
	10	10	-/-	-/-	-/-	20	10	-/-	-/-	50	10	-/-	-/-	-/-
	20	10	-/-	-/-	-/-	30	10	-/-	-/-	50	10	-/-	-/-	-/-

Таблиця 2

Результати дослідження мікробіологічної чистоти гранул на основі згущеного соку з плодів журавлини болотної.

Час зберігання при темп. 4 ± 2°C і 20 ± 2°C	Гранули на основі згущеного соку з плодів журавлини болотної										
	Гранули з лактозю					Гранули з глюкозою					
	Загальна кількість мікроорганізмів в 1 г препарату	Наявність бактерій родини	S. aureus	P. aerug.	Бактерії	Гриби	Загальна кількість мікроорганізмів в 1 г препарату	Наявність бактерій родини	S. aureus	P. aerug.	
Норми	10 ³	10 ²	Недопустимі	Недопустимі	10 ³	10 ²	Недопустимі	Недопустимі	Entero bact.	S. aureus	P. aerug.
Свіжоготовлені гранули	150	<10	Ріст відсутній	Ріст відсутній	170	<10	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
6 міс. зберігання	130	<10	-/-	-/-	150	<10	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	150	<10	-/-	-/-	160	<10	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
12 міс. зберігання	130	10	-/-	-/-	140	50	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	140	10	-/-	-/-	160	50	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
18 міс. зберігання	110	10	-/-	-/-	140	50	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	120	10	-/-	-/-	150	50	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
24 міс. зберігання	120	10	-/-	-/-	130	40	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	140	10	-/-	-/-	150	40	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-

**Результати дослідження мікробіологічної чистоти згущеного соку
з плодів журавлини болотної.**

Час зберігання при темп. 4 ± 2°C	Згущений сік з плодів журавлини болотної					
	Загальна кількість мікроорганізмів в 1 г препарату		Наявність бактерій родини			
	Бактерії	Гриби	Enterobacteriaceae	Staphylococcus aureus	Pseudomonas aeruginosa	
Норми	103	102	Недопустимі	Недопустимі	Недопустимі	
Свіжовиготовлена фітосубстанція	70	<10	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній	
6 міс. зберігання	60	<10	-//-	-//-	-//-	-//-
12 міс. зберігання	70	<10	-//-	-//-	-//-	-//-
18 міс. зберігання	70	10	-//-	-//-	-//-	-//-
24 міс. зберігання	80	10	-//-	-//-	-//-	-//-

ФАРМАЦІЯ

Таким чином, на основі одержаних досліджень можна зробити висновок, що всі фітосубстанції з плодів журавлини болотної та гранули на основі її згущеного соку за показниками мікробіологічної чистоти відповідають вимогам ДФУ протягом усього терміну зберігання за різних температурних умов.

Висновки. Експериментально встановлено, що протягом 2-ох років зберігання зразків фітосубстанцій з плодів журавлини болотної та гранул на їх основі, кількість мікроорганізмів у них не перевищувала 1000 одиниць, а бактерії родини Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa не виявлені у жодному з досліджуваних зразків. Таким чином жмих, згущений сік з плодів журавлини болотної та гранули на його основі за рівнем мікробіологічного забруднення відповідають вимогам Державної Фармакопеї України.

ЛІТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. — Т. 1. — С. 1127.
2. Настанова Європейської асоціації урологів із лікування інфекцій сечових шляхів (EAU, 2012/2013).
3. Яцюк К. М. Журавлина болотна (*Oxycoccus palustris*pers. L.) як джерело для одержання лікарських засобів / К. М. Яцюк, М. І. Федоровська, Н. П. Ковальська // Фітотерапія часопис. — 2015. — № 2. — С. 26–28.
4. Guay D. R. Cranberry and urinary tract infections // Drugs. -2009. -Vol. 69, № 7. — P. 775–807.
5. Davidson E., Zimmermann B.F., Jungfer E. [et al.]. Prevention of urinary tract infections with vaccinium products // Phytother. Res. -2014. -Vol. 28, № 3. -P. 465–470.

Исследование микробиологической чистоты фитосубстанций и гранул с плодов клюквы обыкновенной

К. М. Яцюк, М. И. Федоровская, Р. В. Куцык

**Ивано-Франковский национальный медицинский университет,
г. Ивано-Франковск**

Введение. Сохранение микробиологической чистоты в течение срока хранения и применения является важным требованием, предъявляемым к фитосубстанциям и средствам растительного происхождения, применяемым в медицине.

Цель. Изучение микробиологической чистоты свежееизготовленных и в процес се хранения образцов фитосубстанций и гранул из плодов клюквы болотной при температуре 4 ± 2 °C и 20 ± 2 °C.

Материалы и методы. Общее содержание бактерий и грибов, а также наличие бактерий сімейства Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa определяли по методике ГФУ 2-е издание.

Результаты. Установлено, что в жмыхе из плодов клюквы болотной полученном различными методами сушки и его образцах, хранившихся в течение 2-х лет при температуре 4 ± 2 °C и 20 ± 2 °C, общее количество микроорганизмов не превышало 50, а общее количество грибов не превышало 20 монокультур. Микробиологическая чистота сгущенного сока составляла не более 115 бактерий и 10 грибов. Количество микроорганизмов и грибов в пробах гранул не превышало 170 и 50 монокультур соответственно. Рост энтеробактерий (Enterobacteriaceae), золотистого стафилококка (Staphylococcus aureus) и синегнойной палочки (Pseudomonas aeruginosa) не выявлены в одном из исследуемых образцов.

Выводы. Результаты исследований подтверждают, что жмых полученный различными методами сушки, сгущенный сок из плодов клюквы болотной и гранулы на его основе по урону микробиологического загрязнения соответствуют требованиям Государственной Фармакопеи Украины, касающиеся препаратов для внутреннего применения.

Ключевые слова: микробиологическая чистота, жмых, сгущенный сок, гранулы, клюква болотная.

Investigation of microbiological purity of phyto substances and granules of fruits of vaccinium oxycoccos

K. M. Yatsiuk, M. I. Fedorovska, R. V. Kutsyk

Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk

Introduction. Preservation of microbiological purity during a shelf life and application is an important requirement applied to phyto substances and remedies of plant origin that are used in medicine.

Purpose. Study of microbiological purity of freshly prepared phytosubstances samples and granules from cranberry fruits and those stored at a temperature of 4 ± 2 °C and 20 ± 2 °C.

Materials and methods. The total content of bacteria and fungi, as well as the presence of microorganisms from Enterobacteriaceae family, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa was determined by the method specified by the State Pharmacopoeia of Ukraine, 2-nd edition.

Results. The total quantity of bacteria and fungi in small cranberry pomace obtained by different drying methods and its samples stored for 2 years at a temperature of 4 ± 2 °C and 20 ± 2 °C was found not to exceed 50 and 20 monocultures, respectively. The microbiological load of condensed juice was not more than 115 bacteria and 10 fungi. The quantity of bacteria and fungi in samples of granules did not exceed 170 and 50 monocultures, respectively. No growth of Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus, and Pseudomonas aeruginosa was detected in any of the samples.

Conclusions. The results of the studies proved that the pomace obtained by different methods of drying, condensed juice from cranberry fruits and granules with this juice meet the microbiological standards applied to drugs for internal use and specified by the SPU.

Key words: microbiological purity, pomace, condensed juice, granules, cranberry fruits.

Відомості про авторів:

Яцюк Катерина Михайлівна — асистент кафедри організації та економіки фармації і технології ліків ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет». Адреса: м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.

Федоровська Мар'яна Іванівна — кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри організації і економіки фармації та технології ліків ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет». Адреса: м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.

Куцук Роман Володимирович — доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет». Адреса: м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.