

О.В. КУХАРЧУК, магістрант
Н.М. ГРЕГІРЧАК, канд. техн. наук
Національний університет харчових технологій

ДОСЛІДЖЕННЯ ДІЇ КОМБІНОВАНОГО БІОЦИДУ НА ОСНОВІ ПОЛІГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНІДИНУ

Досліджено дію комбінованого біоциду на основі полігексаметиленгуанідинів та перекису водню.

Для створення комбінованого препарату використовувався дезінфікуючий засіб поліалкіленгуанідинової природи — Полідез, так як препарат володіє стабільністю і довготривалою протимікробною дією, що обумовлена полімерною природою препарату і властивістю утворювати на поверхні тонку біоцидну плівку та перекис водню, що володіє високою окислювальною здатністю, викликає порушення проникності бактеріальних клітин вже у перші хвилини контакту.

Ключові слова: полігексаметиленгуанідин, Полідез, перекис водню, комбінований препарат, дезінфікуючі засоби, інактивація, час експозиції, біонавантаження.

Исследовано действие комбинированного биоцида на основании полигексаметиленгуанидинов и перекиси водорода.

Для получения комбинированного препарата использовали дезинфицирующее средство полиалкиленгуанидиновой природы — Полидез, так как препарат обладает стабильностью и длительным антимикробным действием, что представлено полимерной природой препарата и свойством образовывать на поверхности тончайшую полимерную пленку, и перекись водорода, который обладает окислительной способностью, вызывает нарушение проникновенности бактериальных клеток на первых минутах контакта.

Ключевые слова: полигексаметиленгуанидин, Полидез, перекись водорода, комбинированный препарат, инактивация, время экспозиции, бионагрузка.

The efficiency of combined biocide preparation of polyhexamethylenguanidine and hydrogen peroxide was determined.

The desinfectant of polyalcilenguanidine nature — Polydez was used for creation of combined preparation due to its stability and long-lasting antimicrobial action which caused by its polymeric nature and ability to create a thin biocide film on the surfaces. The second component of preparation was hydrogen peroxide which has oxidizing ability, causes infringement in permeability of bacteria cells during first minutes of contact.

Key words: polyhexamethylenguanidine, Polydez, hydrogen peroxide, combined preparation, inactivation, exposition time, biocapacity.

Із стрімким розвитком харчової помисловості вимоги до дезінфікуючих засобів, що використовуються для забезпечення умов асептики при виробництві якісної продукції, також зростають. Для створення належного санітарного стану на виробництві з кожним роком виникає потреба у використанні нових універсальних дезінфікуючих засобів і безпечних для людини технологій їх застосування. Одна із причин пошуку нових дезінфікуючих засобів полягає у тому, що сам мікробний фон постійно змінюється, адаптуючись до традиційних дезінфікантів.

На підприємствах харчової промисловості використовують широкий спектр різноманітних за хімічною природою біоцидних препаратів: хлорактивні препарати, кисневмісні сполуки і дезінфікуючі засоби на основі поверхнево-активних сполук. Щорічно десятки з них знімаються з вироб-

ництва внаслідок їх низької антимікробної активності, або високої токсичності.

Крім природної стійкості деяких мікроорганізмів до біоцидних препаратів, мікроорганізми швидко адаптуються до несприятливих чинників, у тому числі і до дії антимікробних засобів. Цей феномен пояснюється, в першу чергу, виживанням в умовах контакту з біоцидом найстійкіших (резистентних) штамів бактеріальної популяції. У результаті, внаслідок мутації, виживають клітини, які мають змінений ген. Описані випадки розмноження потенційно патогенних мікроорганізмів в розчинах, призначених для дезінфекції. Внаслідок нераціонального і не завжди акуратного або некваліфікованого використання дезінфікуючих засобів число резистентних штамів постійно зростає, а полірезистентні збудники інфекційних захворювань мають тенденцію до розповсюдження в зовнішньому середовищі [1].

Поруч з уже відомими класами дезінфікуючих засобів з'явилися препарати нового покоління, які мають поліалкіленгуанідинову природу. Практична цінність цих препаратів полягає в тому, що вони мають широкий спектр дії на мікроорганізми і пролонгований ефект, крім того їх можна використовувати практично в усіх галузях промисловості з гарантованою безпекою для людей, тварин і навколишнього середовища.

Головним представником поліалкіленгуанідинів (ПАГів) є високомолекулярні солі полігексаметиленгуанідину (ПГМГ). ПАГи володіють широким спектром антимікробної активності, стабільністю і довготривалою протимікробною дією, що обумовлена полімерною природою препаратів і їх здатністю утворювати на поверхні тонку біоцидну плівку [4].

До застосування в Україні дозволені такі препарати на основі солей полігексаметиленгуанідину, як Вітасепт, Гембар, Лізетол АФ, Полідез, Славін та деякі інші.

Та оскільки не існує ідеального біоциду, що володіє широким спектром антимікробної активності, низькою токсичністю, відсутністю корозійної дії, стабільністю, сумісністю з іншими сполуками, поліпшити їх властивості вдається шляхом комбінованого застосування. Механізм дії комбінованих дезінфектантів обумовлений тим, що за допомогою одного із комбінацій дезінфікуючого препарату нейтралізується система захисту клітини, після чого другий дезінфектант отримує практично безперешкодний доступ до головних мішеней бактеріальної клітини, і взаємодіючи з ними, інактивує клітину [2].

Більшість дезінфікуючих препаратів на основі солей полігексаметиленгуанідинів представляють собою комбінації декількох діючих речовин. Адже дія різних дезінфікуючих речовин в комплексі значно підсилює антимікробну активність препарату.

Попередніми дослідженнями було встановлено, що препарати полігексаметиленгуанідинової природи ефективні проти бактерій, але для досягнення фунгіцидного ефекту потрібно використовувати вищі концентрації робочих розчинів та збільшувати час дезінфекції, або підсилити мікробіцидні властивості препарату іншою правильно підбраною діючою речовиною [3].

Оскільки за кордоном уже існують комбіновані препарати на основі полігексаметиленгуанідинів та перекису водню, було актуальним дослідити дію препарату українського виробництва («Полідез»), що містить ПГМГ у комплексі із таким сильним окисником як перекис водню при різних концентраціях діючих речовин.

Сам по собі перекис водню характеризується сильною окислювальною здатністю, а препарат «Полідез» повільною дією при низьких концентраціях. Тому створенням такої комбінації ми зможемо підсилити мікробіцидні властивості Полі-

дезу та досягнути мінімальної токсичності перекису водню.

Як об'єкти дослідження обрано такі тест-культури мікроорганізмів: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* та *Penicillium chrysogenum*. Досліджували ефективність комбінованого біоциду на основі 1% розчину Полідезу та перекису водню при різних співвідношеннях концентрацій діючих речовин.

Дослідження мікробостатичної та мікробіцидної дії комбінованого препарату проводили методом циліндрів. Зразки досліджуваного препарату з різним співвідношенням розчину Полідезу та перекису водню вносили у циліндри розміщені на поверхні середовища, попередньо засіяного відповідною тест-культурою. Впродовж 30 діб спостерігали дію дезінфектанта за діаметром зон затримки росту культур.

Для встановлення залежності антимікробної активності дезінфектанта від часу експозиції попередньо готували досліджувані розчини і вносили в кількості 9 мл у пробірки. Суспензію досліджуваної тест-культури мікроорганізма визначеної концентрації вносили у дезінфектант. Після заданої експозиції мікроорганізма із досліджуванним розчином пробу (0,1мл) вносили в пробірку з нейтралізатором і проводили висів на відповідне поживне середовище.

Для визначення впливу біонавантаження в досліджувані розчини біоцидів вносили певну кількість суспензії тест-культури мікроорганізма. Після заданої експозиції культури з досліджуваним дезінфектантом проводили висів на відповідне поживне середовище.

Через 10 хв у ці ж дезінфектанти вносили нову дозу мікроорганізму і після експозиції визначали число живих клітин. Потім операцію повторювали ще через 10 хв. Через 1 год, а потім ще через 24 год експозиції, проводили контрольні висіви на поживне середовище [2].

Визначення мікробіцидної та мікробостатичної дії комбінованого препарату проводили на агаризованому поживному середовищі методом циліндрів. Використовували різні співвідношення концентрацій діючих речовин Полідезу та перекису водню: 1:1, 4:1, 1:4 та контроль — 1 % розчин Полідезу. Дезінфікуючу дію досліджуваних розчинів визначали за діаметром зони затримки росту тест-культури. Результати дослідів наведені на рисунках 1 – 4.

Дослідження дії комбінованих препаратів на грибку мікрофлору показало, що найактивнішим для *P. chrysogenum* (Рис.1) виявився розчин Полідезу та перекису водню у співвідношенні 1:1, препарат має фунгістатичну дію. Суміш 1:4 ефективно діє протягом 16 діб, після спостерігається зниження мікробіцидних властивостей. 1% розчин Полідезу має стабільний фунгіцидний ефект, чим підтверджує пролонгованість дії даного препарату.

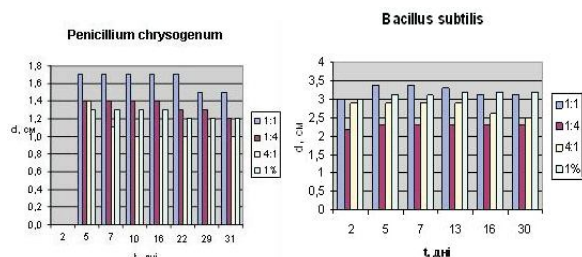


Рис. 1. Порівняння дії комбінованого препарату на *P. chrysogenum*

Також проводилось дослідження дії комбінованого препарату на бактерії в залежності від їх забарвлення за Грамом та утворенням спор. За результатами дослідів встановлено, що на *S. aureus* (Рис.3) дія суміші 4:1 найкраща. Суміш 1:1 та 1% розчин Полідезу діють бактериостатично. Найнижча активність спостерігається у комбінованого препарату при співвідношенні концентрацій діючих речовин 1:4. На санітарно-показову культуру *E. coli* (Рис.4) бактерицидно діють суміші комбінованих препаратів у співвідношенні 4:1 та 1:1.

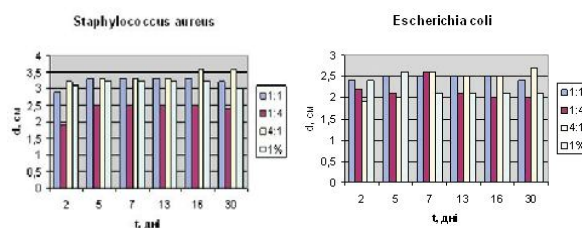


Рис. 3. Порівняння дії комбінованого препарату на *Staphylococcus aureus*

При дослідженні дії комбінованих препаратів на спороутворювальну *B. subtilis* (Рис.2) виявлено, що найактивнішим є розчин 1:1, що проявляє бактерицидний ефект. Розчин із суміші 1:4 не викликає зміни діаметрів зон затримки росту, спостерігається його бактериостатична дія на культуру.

Таким чином, порівняльне визначення мікробостатичної дії композиційних дезінфікуючих препаратів показало досить високу активність суміші 4:1. Тому у наступних дослідках ми використовували композицію у даному співвідношенні.

Ефективність дії дезінфікуючого засобу визначається його хімічною природою, концентрацією, температурою, рН та терміном контакту з зараженим об'єктом. Для проведення якісної дезінфекції важливо знати, яка повинна бути тривалість обробки приміщень для знищення бактеріальних та грибних шкідників. Адже довготривала дезінфекція не тільки веде до економічних витрат, а й може завдати шкоди оточуючому середовищу і здоров'ю працівників. Щоб цього уникнути, необхідно визначити як змінюється дія препаратів в залежності від тривалості експозиції.

Для дослідження ефективності суміші 4:1 провели дослід на встановлення залежності антимі-

кробної активності від часу експозиції. Як контроль використовували 0,5 % розчин Полідезу та 3 % розчин перекису водню. Результати наведені в табл. 1.

Таблиця 1

Залежність бактерицидної активності від тривалості експозиції

Досліджувані розчини	Тест-культури									
	Концентрація клітин, КУО/см ³									
	<i>Penicillium chrysogenum</i> N _{поч} = 6 · 10 ⁵					<i>Pseudomonas aureginosa</i> N _{поч} = 8 · 10 ⁷				
	5 хв	15 хв	30 хв	1 год	24 год	5 хв	15 хв	30 хв	1 год	24 год
суміш 4:1	—	1 · 10 ⁴	—	—	—	2 · 10 ⁵	5 · 10 ⁴	—	—	—
3% розчин Н ₂ О ₂	—	—	—	—	—	7 · 10 ⁵	2 · 10 ⁵	2 · 10 ⁵	—	—
0,5% розчин Полідезу	—	—	—	—	—	4 · 10 ⁴	1 · 10 ⁴	—	—	—

Примітка. «—» — ріст не спостерігається.

Із наведених результатів дослідів відмічено, що комбінована суміш препаратів Полідезу та перекису водню у співвідношенні 4:1 є достатньо ефективним дезінфікуючим розчином як для бактеріальних так і для грибних культур. Вона найкраще діє на грампозитивну культуру *S. aureus* викликаючи бактерицидний ефект з перших хвилин дезінфекції і зберігаючи її протягом доби. Щодо, грамнегативних *E. coli*, *P. aureginosa* (табл.1), ці культури більш стійкі до дії досліджуваних дезінфікантів. Бактерицидний ефект спостерігається лише після 30 хв дії розчинів. Це, очевидно, зумовлено особливостями складу клітинної стінки грамнегативних бактерій.

Для дріжджів *Candida albicans* мікробіцидна дія 0,5 % розчину Полідезу проявляє після 30 хв, в той час як дія дезінфікуючої суміші 4:1 фунгіцина вже після 5 хв.

Для грибних культур *Penicillium chrysogenum* (табл.1) та *Aspergillus niger* найкращими дезінфікантами є 3% розчин перекису водню та 0,5% розчин Полідезу. Суміш 4:1 діє фунгіцидно лише на *Aspergillus niger*, а на *Penicillium chrysogenum* спостерігається фунгістатична дія.

У результаті проведених експериментів встановлено, що вплив досліджених препаратів на тест-культури залежить від їх хімічної будови, а також від будови клітин мікроорганізмів. В комбінованому препараті мікробіцидна активність обумовлена тим, що перекис водню нейтралізує систему захисту клітини, після чого Полідез отримує практично безперешкодний доступ до головних мішеней мікробної клітини, і взаємодіючи з ними, інактивує клітину.

Дослідивши залежність комбінованого препарату від тривалості експозиції, доцільним було визначити його здатність зберігати активність при постійному збільшенні мікробного навантаження.

У досліджувані розчини послідовно через кожні 10 хв вносили визначену кількість суспензії дослі-

джуваної культури. Після експозиції з антисептиком і його нейтралізації проводили висів зразків на чашки Петрі з відповідним поживним середо-