

АКТИВНІСТЬ СУЧАСНИХ КОНСЕРВУЮЧИХ КОМПОЗИЦІЙ ЩОДО ГРАМНЕГАТИВНИХ БАКТЕРІЙ

Магістерська дисертація

Виконала:

Гончар Христина Віталіївна

Керівник:

доцент кафедри фізичної хімії

КШ ім. Ігоря Сікорського

к.б.н., доц. Хрокало Л.А.

РЕФЕРАТ

У цій роботі проведено літературний огляд сучасних консервуючих композицій, визначено мінімальні інгібуючі концентрації семи консервантів виробництва ізраїльської компанії SHARON Laboratories за допомогою методу серійних розведень та методу висіву на середовище Ендо. За результатами дослідження зроблено висновки про те, що найефективнішими консервантами з усіх досліджених є Sharomix 300 і Sharomix MCI BA, мінімальна інгібуюча концентрація яких становить 1 000 ppm. Найменш ефективним консервантом виявився консервант Sharomix EG10, мінімальна інгібуюча концентрація якого становить 11 000 ppm. Розроблено стартап-проект зі створення лабораторії з визначення антибактеріальної активності консервантів, що використовуються в косметичній промисловості.

Загальний обсяг сторінок – 81, таблиць – 21, рисунків – 7, додатків - 5, джерел – 66.

Ключові слова: консервант, Sharomix, мінімальна інгібуюча концентрація, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

This paper presents a literature review of modern preservative compositions. Minimum inhibitory concentrations of seven preservatives were determined using the serial dilution method and the seeding method on the Endo medium. The study concluded that the most effective preservatives were Sharomix 300 and Sharomix MCI BA, with a minimum inhibitory concentration of 1 000 ppm. Sharomix EG10, a preservative with a minimum inhibitory concentration of 11 000 ppm, was the least effective preservative. A startup project has been developed in order to create a microbiological laboratory to determine the antibacterial activity of preservatives used in the cosmetic industry.

The total number of pages - 81, tables - 21, figures - 7, appendices - 5, sources - 66.

Key words: preservative, Sharomix, minimum inhibitory concentration, *Escherichia coli*.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	7
РОЗДІЛ I. ВСТУП	8
РОЗДІЛ II. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД	11
1. Сучасні консерванти косметичних засобів і їх характеристика	11
2. Принципи вбору консервантів на їх сумішей	21
3. Дослідження антимікробної активності консервантів	24
4. Аналітичні методи визначення консервантів у косметичних засобах	28
РОЗДІЛ III. МЕТОДИ	30
РОЗДІЛ IV. РЕЗУЛЬТАТИ	32
РОЗДІЛ V. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	34
РОЗДІЛ VI. СТАРАП-ПРОЕКТ	39
1. Вступ	39
2. Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовищ стартапу	45
3. Потенційні споживачі	55
4. Оцінка ринкових позицій інноваційної розробки	58
5. Аналіз джерел та моделей фінансування проекту	60
6. Розрахунок вартості стартап проекту	60
7. Розрахунок ціни інноваційної пропозиції на ринку	63
8. Оцінка ризиків та страхування розробки	64
РОЗДІЛ VII. ВИСНОВКИ	68
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	70
ДОДАТКИ	77
1. Додаток А	77
2. Додаток Б	78
3. Додаток В	79
4. Додаток Г	80
5. Додаток Д	81

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І
ТЕРМІНІВ**

ВА – бензойна кислота

МІС – мінімальна інгібуюча концентрація

FIC – дробова інгібуюча концентрація

РОЗДІЛ І

ВСТУП

Популярність косметичних засобів з високим вмістом водної фази зростає. Для забезпечення високої якості косметичних виробів, а також безпеки їх використання, застосовують консерванти. Консерванти – це хімічні речовини, які здійснюють мікробіологічний захист косметичних засобів у процесі їх зберігання та використання.

Консерванти, що використовуються у косметичній промисловості, мають різну хімічну природу та ефективність. Для забезпечення комплексного мікробіологічного захисту (проти грамполозитивних, грамнегативних, грамполозитивних споруотворюючих бактерій та грибів) рекомендують застосовувати суміш різних консервантів. При цьому виникає синергетичний ефект, завдяки якому ефективність консервуючої суміші зростає. Консерванти, що застосовують при виробництві косметичних засобів, повинні відповідати ряду вимог. Основні з них такі: консерванти повинні мати широкий спектр антибактеріальної дії, бути ефективними за низьких концентрацій і у широкому діапазоні рН, мати хорошу розчинність у воді, бути безпечними для людини і навколишнього середовища, бути стійкими і не взаємодіяти з іншими компонентами косметичного засобу чи упаковки, не змінювати органолептичних властивостей косметичного виробу. Створення консервуючих сумішей, що відповідали б усім вище зазначеним вимогам є досить складною технологічною задачею. Ізраїльська косметична компанія SHARON Laboratories розробила ряд сучасних консервуючих сумішей, мікробіологічна активність яких і була досліджена у даній роботі.

Метою магістерської дисертації є визначення мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК) консервуючих сумішей, що мають синергетичний ефект.

Об'єктом дослідження є консерванти, які можна класифікувати на наступними групами: 1. парабеновмісні (Phenochem NIB, Sharomix DMP, Sharomix 300); 2. що не містять парабенів (Sharomix MCI BA, Sharomix MCI

II, Sharomix EG10, Sharomix 702); 3. що містять формальдегід (Sharomix DMP),; 4. що містять галогеновмісні сполуки (Sharomix MCI BA, Sharomix MCI II).

Предметом дослідження є встановлення концентрацій досліджуваних консервантів, які повністю знищують грамнегативну бактерію *Escherichia coli*.

Завдання магістерської дисертації полягати у наступному:

- провести літературний огляд сучасних консервантів, що використовуються у косметичній промисловості;
- опрацювати методики визначення діючих концентрацій консервантів на мікробіологічних тест-об'єктах;
- дослідити МІК для 7 консервуючих сумішей виробництва SHARON Laboratories;
- порівняти МІК різних консервантів та визначити найбільш ефективний консервант;
- розробити стартап-проект щодо створення лабораторії мікробіологічних досліджень.

Актуальність даної магістерської дисертації полягає у тому, що консерванти необхідні при виробництві будь-яких косметичних засобів, майже всі вони добре розчиняються у воді, що створює велике навантаження на навколишнє середовище. За рахунок синергетичного ефекту, ефективність консервуючих сумішей зростає, що дозволяє зменшити відсоток введення консерванту у косметичний засіб, і відповідно, знизити рівень шкідливого впливу на навколишнє середовище. Окрім цього, мікроорганізми мають здатність швидко мутувати, тому концентрації консервантів потрібно регулярно уточнювати. Ця робота була виконана на замовлення компанії КФФ «Трейд», що закупила ряд консервуючих сумішей у «SHARON Laboratories» і звернулася до нас з метою уточнення МІК, оскільки дані надані виробником бути отримані шляхом екстраполяції уже існуючих даних по кожному компоненту консервуючих сумішей. Таким чином, новизна даної магістерської дисертації полягає у тому, що були вперше досліджені сучасні

консервуючі суміші лабораторним методом, з урахуванням синергетичного ефекту і мінливих умов навколишнього середовища. Цей факт надає великого практичного значення даній роботі, оскільки результати досліджень будуть застосовані підприємством КФФ «Трейд» при виробництві косметичних засобів.

РОЗДІЛ II

ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

Останнім часом зростає популярність косметичних засобів з високим вмістом водної фази (наприклад, тоніки, зволожуючі креми, молочко, гелі тощо). Такі засоби є сприятливим середовищем для розвитку мікроорганізмів. Дослідження показали, що косметичні засоби можуть швидко зіпсуватись. З метою забезпечення безпеки у використанні та високої якості косметичної продукції, а також її відповідності до мікробіологічних стандартів застосовують консерванти.

2.1. Сучасні консерванти косметичних засобів і їх характеристика

Консерванти – це важливі допоміжні компоненти косметичних засобів, які необхідні для їх тривалого зберігання. Основна мета введення консервантів у косметичні засоби – захист від мікробіологічного ураження в процесі зберігання та застосування засобу [1].

Етилгексилгліцерин використовують в косметичних засобах завдяки наявності пом'якшуючих, зволожуючих і антимікробних властивостей. Сам етилгексилгліцерин не може ефективно зберігати косметичні продукти, але при концентрації 1% може посилювати антимікробну активність інших консервантів, таких як 1,2-пентандіол, феноксиетанол, метилізотіазолінон або метилпарабен [2]. Етилгексилгліцерин 0,5% в комбінації з 1,2-пентандіолом 3,0% сприяє збереженню задовільного стану засобів по догляду за шкірою [3]. Більш того, антимікробна ефективність 0,5 і 1% Euxyl® PE 9010 (Sharomix EG 10) (феноксиетанол/етилгексилгліцерин) порівнянна з ефективністю традиційної суміші консервантів (0,5 і 1% парабенів в поєднанні з феноксиетанолом) для косметики для догляду за шкірою [1, 4]. Також показано, що 1%-ва суміш етилгексилгліцерину і каприліл гліколю (співвідношення 3:1) пригнічує ріст бактерій і грибів в косметичній емульсії [5]. Комбінація етилгексилгліцерину з каприліл гліколем доступна на ринку у вигляді консервуючої композиції Sensiva®SC 10 (Schülke Inc.) [6].

Антимікробний механізм дії етилгексилгліцерину базується на його поверхнево-активних властивостях. Завдяки їм етилгексилгліцерин впливає на міжфазний натяг клітинної мембрани мікроорганізмів, що дозволяє речовинам краще проникати всередину клітини. Наприклад, сублетальні концентрації етилгексилгліцерину (0,075%) підсилюють дію 2-феноксиетанолу (0,675%) за рахунок пошкодження цілісності клітинної мембрани, порушення енергетичного метаболізму і конденсації ДНК в клітинах *Escherichia coli* [7]. Таким чином, додавання етилгексилгліцерину до феноксиетанолу в співвідношенні 1:9 впливає на пошкодження мембрани, аналогічно подвоєній концентрації феноксиетанолу.

Гліколі можуть впливати на активність води і, як наслідок, на збереження косметичних компонентів [8]. Як правило, вода є основною складовою косметики, але це також середовище для росту мікроорганізмів. Для вирішення цієї проблеми певні речовини можуть зменшувати активність води. Вибір цих речовин залежить від складу косметики, токсичного впливу, а також призначення косметичного засобу [9, 10]. Було показано, що ефективність захисту пропіленгліколем (0,5, 2,75, 5,00 %) порівнянна з метилпарабеном (0,04, 0,22, 0,4%) та пропілпарабеном (0,04, 0,22, 0,4%) [11]. Суміш 30% пропіленгліюлю і 30% 1,3-бутиленгліколю проявляє антимікробну активність порівнянну з 10% гексиленгліколем проти *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *S. mitis* та *E. coli* [12]. Додавання каприлилгліколю 0,3% підвищує активність хімічних консервантів. Phenonip® (парабени/феноксиетанол) або Euxyl K702 (феноксиетанол/бензойна кислота/дегідрооцтова кислота) у композиції о/в привели до значного підвищення антимікробної активності консервантів приблизно на 50% від рекомендованих рівнів використання [13]. Так само суміш каприлилгліколю, фенетилового спирту та гліцерилу-каприлату надає широкий спектр антимікробної активності [1, 14].

Бензойна кислота (ВА) є одним з найпопулярніших консервантів, що застосовується у світі [15], завдяки низькій токсичності для людини. Як і для

більшості слабких органічних кислот, дифузія молекул бензойної кислоти через цитоплазматичну мембрану бактерій є лімітуючою стадією для антибактеріальної активності [16]. Антимікробна активність ВА пов'язана з наявністю недисоційованих молекул [17]. Всередині клітини молекули бензойної кислоти дисоціюють на протони і кислотні аніони, які не можуть переноситися назад в позаклітинне середовище через цитоплазматичну мембрану, що призводить до збільшення концентрації заряджених іонів всередині клітини [16]. Накопичення протонів зсуває рН цитоплазми, що інгібує ріст мікроорганізмів за рахунок впливу на метаболічні процеси в клітинах мікроорганізмів, такі як гліколіз, клітинна сигналізація та активний транспорт. ВА може змінювати активність ферментів мікроорганізмів [17], включаючи ферментні системи, що контролюють метаболізм оцтової кислоти, окисне фосфорилування та цикл лимонної кислоти. Молекулярна форма бензойної може інгібувати ріст грибів за дії в концентраціях 0,05% та 0,1%, що робить її відмінним протигрибковим агентом. Незважаючи на те, що деякі збудники харчових отруєнь можуть бути інгібовані 0,02% ВА, багато спороутворюючих бактерій виявилися більш стійкими до ВА. Дослідження, проведені на *Listeria monocytogenes*, показали, що бензойна кислота за концентрації 1000 - 3000 ppm має сильну бактеріостатичну, але низьку бактерицидну активність проти патогену [18, 19]. Тому на сьогодні застосування бензойної кислоти у якості самостійного протимікробного агенту є сумнівним.

В якості консервантів часто застосовують складні ефіри парагидроксибензойної кислоти (*n*-ГБК) - парабени [21-24]. Найбільш поширеними парабенами є метилпарабен (Е 218), пропілпарабен (Е 216), етилпарабен (Е 214), бутилпарабен. Рідше застосовують ізобутил-, ізопропіл-, бензил- та гептилпарабен (Е 209). Всі парабени, що використовуються комерційно, виробляють шляхом хімічного синтезу.

Ефективність парабенів залежить від їх концентрації і рН розчину, типу і концентрації інгредієнтів рецептури. Інтервал рН найбільшої активності

парабенів - від 4 до 8. При $pH = 8,5$ вони дисоційовані приблизно на 50%, що значною мірою знижує їх ефективність, а при $pH = 7$ працює від 60 до 65% [22, 25]. За консервуючою дією ці ефіри значно перевершують вільну *n*-ГБК та її солі. На відміну від бензойної та сорбінової кислот, парабени зберігають свою активність не тільки в кислих, але і в нейтральних середовищах [26]. Парабени більш ефективні проти грибів і цвілі, ніж проти бактерій, а з бактерій найбільш ефективні відносно грампозитивних культур [27]. Антимікробна активність парабенів зростає зі збільшенням довжини алкільного ланцюга, але при цьому різко зменшується їх розчинність в воді. Так, при $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ в 100 г води розчиняється 0,25 г метилпарабену і лише 0,04 г пропілпарабену [28].

Мінімальні концентрації інгібування для парабенів за даними різних літературних джерел [22, 29-31] для парабенів щодо стандартних тест-культур мікроорганізмів наведені у табл. 2.1.

Широко застосовують синергічні суміші метилпарабену і пропілпарабену в масовому співвідношенні від 8:1 до 2:1 за сумарно концентрації до 0,4% (в окремих випадках - до 0,8%). Метил- і пропілпарабени вводять як такі або у вигляді розчинів в етанолі (розчинність, відповідно, 52 і 95%), або в пропіленгліколі (розчинність - 22 і 26%). Можливе застосування з іншими консервантами, зокрема, з бронополом (консервуючі суміші Germal 115, Глідантом (Glydant), Dowicil 200 і ін [22]).

Непатентовані торгові назви метилового ефіру *n*-гідроксибензойної кислоти: метилпарабен (INCI, INN), Nipagin M, Solbrol M, Microcare MNB, Trisept M.; назви *n*-пропілового ефіру *n*-гідроксибензойної кислоти: пропілпарабен, Nipagin P, Nipasol, Solbrol P, Microcare OHB і ін. Деякі торгові назви *n*-бутилового ефіру *n*-гідроксибензойної кислоти: Butylparaben NF, Nipabutyl, Trisept B. Також досить часто використовують етиловий (наприклад, Ethylparaben NF, Microcare EHB, Nipagin A), значно рідше - ізопропіловий і ізобутиловий ефіри *n*-гідроксибензойної кислоти [22].

Таблиця 2.1. Значення МІС для естерів *n*-гідроксибензойної кислоти

Мікроорганізми		МІС парабенів, %				Література
		Methyl	Ethyl	Propyl	Butyl	
Плісняві гриби	<i>Aspergillus</i>	0,1	0,04	0,02	0,02	[22], [29]
	<i>niger</i>	0,06	0,03	0,03	0,02	[30]
	<i>Penicillium</i> <i>digitatum</i>	0,05	0,025	0,0063	0,003	[22], [29]
Дріжджо ві гриби	<i>Candida</i>	0,1	0,1	0,0125	0,0125	[22], [29]
	<i>albicans</i>	0,09	0,05	0,02	0,01	[30]
	<i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i>	0,1	0,05	0,0125	0,0063	[22], [29]
Бактерії	<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>	0,16	0,15	>0,09	-	[30]
	<i>Bacillus cereus</i>	0,2	0,1	0,0125	0,0063	[22], [29]
		0,16	0,08	0,03	0,01	[30]
	<i>Bacillus subtilis</i>	0,2	0,1	0,025	0,0125	[22], [29]
	<i>Bacillus</i> <i>cerevisiae</i>	0,1	0,05	0,0125	0,0063	[22], [29]
	<i>Burkholderia</i> <i>cepacia</i>	0,06	0,035	0,02	0,02	[30]
	<i>Escherichia coli</i>	0,14	0,07	0,035	0,014	[30]
	<i>Staphylococcus</i> <i>epidermidis</i>	0,2	0,09	0,035	0,015	[30]
<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	0,2	0,1	0,03	0,011	[30]	

Парабени застосовують у виробництві косметичних засобів, таких як шампуні, кондиціонери, гелі для душу, зубні пасти, спреї, дезодоранти, мило, креми, тоніки, лосьйони і декоративна косметика.

Парабени не мають запаху, за кольором і смаком не змінюють органолептичних характеристик продукції, відносно нетоксичні. Потрапляючи в шлунково-кишковий тракт людини в результаті споживання продуктів харчування, парабени досить швидко всмоктуються і виводяться, не накопичуючись в організмі. Потрапляючи на шкіру, парабени безперешкодно проходять крізь бар'єр епідермісу, однак, при частому застосуванні, вони здатні накопичуватися в дермальному шарі. Володіючи задовільними токсикологічними показниками в рекомендованих дозах, парабени при підвищених вмісті, на думку низки авторів, можуть накопичуватися в організмі і мати екстрогеноподібну дію [24, 33]. Парабени можуть вступати в реакцію з білками, лецитином, ефірами целюлози, іонами заліза і ін., а також активно адсорбуватися полімерами упаковки, що треба враховувати при виборі матеріалу для пакування. Парабени здатні значно посилити вплив сонця на шкіру людини, що призводить до прискореного старіння шкіри. Відомо також, що парабени здатні викликати алергічні реакції, тому в таких косметичних засобах, як креми, які використовують для лікування дерматологічних захворювань, парабени або відсутні взагалі, або містяться в надзвичайно низьких кількостях [34].

Феноксиетанол входить до складу багатьох засобів догляду за шкірою, волоссям, засобів для ванн. Завдяки низькій здатності викликати подразнення і алергічні реакції, його дозволено використовувати в продуктах для дітей.

Феноксиетанол вводять у різні типи композицій за рахунок його розчинності. Консерванти з низькою розчинністю у воді можуть бути розчинені у феноксиетанолі до їх включення в композицію, що робить його важливим компонентом у різних сумішах консервантів. Ще однією перевагою феноксиетанолу, як частини суміші, є його здатність до посилення впливу на антимікробні властивості інших консервантів [30].

При використанні лише феноксиетанолу рекомендована концентрація дорівнює 1%, але в комбінації з іншими антимікробними препаратами його вміст може бути зменшений. Феноксиетанол стійкий у широкому діапазоні

pH та температур, знищує як грамнегативні, так і грампозитивні бактерії. Він також сумісний з усіма типами поверхнево-активних речовин, аніонними, катіонними, неіоногенними та амфотерними, на відміну від більшості антимікробних речовин та активних інгредієнтів.

2-Феноксиетанол, що виробляється для косметичних цілей, зазвичай містить до 8-10% диетилен-гліколевого етеру фенолу. Це має певні технологічні переваги, оскільки диетиленгліколевий етер знижує температуру плавлення моноетеру (близько 12°C) і полегшує введення консерванту в засіб. 2-феноксиетанол широко використовують як розчинник пігментів, ацетату целюлози, як фіксатор запашних речовин в парфумерії. Він обмежено розчинний у воді (2,5%), добре розчинний в спиртах, гліколях і рослинних оліях. Значення МІС для деяких мікроорганізмів за даними [22, 30] наведені у таблиці 2.2.

Таблиця 2.2 - Значення МІС для деяких мікроорганізмів (%)

Мікроорганізм	МІС за [22]	МІС за [30]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Г—)	0,32	0,32
<i>Escherichia coli</i> (Г—)	0,36	0,32
<i>Proteus vulgaris</i> (Г—)	0,75	
<i>Staphylococcus aureus</i> (Г+)	0,80	0,64
<i>Bacillus subtilis</i> (Г+)	1,00	
<i>Candida albicans</i>	0,54	0,32
<i>Aspergillus niger</i>	0,33	0,32

2-феноксиетанол малоефективний щодо рецептур з високим вмістом білків та білкових гідролізатів. Для слабо кислих середовищ 2-феноксиетанол має бактеріостатичний ефект в концентрації 0,5-1,0%. Механізм його дії полягає у порушенні клітинної стінки та цитоплазматичних мембран мікроорганізмів. Феноксиетанол часто застосовують у поєднанні з іншими типами консервантів [22, 35]. Він часто проявляє синергізм з електрофільними консервантами, антиоксидантами та

активними добавками. Так, в поєднанні з парабенами феноксиетанол реалізують під торговими назвами: Phenochem [30], Phenonip та Dragocide Liquid, з метилдибромглутароністром - під маркою Euxyl K400, з піроктоноламіном або піроктоноламіном та бензойною кислотою - відповідно, під назвами Nipaguard P05 та Nipaguard POB [36, 37], з антиоксидантом трополоном - під назвою SymOcide PT [22], з 2-етилгексилгліцерином - під назвою Euxyl PE 9010 [22, 30]. З екстрактом кори *Magnolia acuminata* і гліцерилкаприлатом феноксиетанол випускають як Ritative SR4L Magnolia [22], а в поєднанні з бензилпірроліддонкарбоксилатом (Бензил PCA) він включений до складу препаратів Twincide [35].

Крім парабенів та феноксиетанолу ще один консервант також широко використовують в косметичці, миючих засобах, та промислових продуктах, а саме 5-хлор-2-метил-4-ізотаозолінон (MCI) та метилізотіазолінон (MI) в комбінації 3:1.

Активність ізотіазолінону пов'язана з тіолом та аміно- групами цих молекул [38, 39]. Дослідження, проведені стосовно кількісних зв'язків структура - активність 22 похідних 3-ізотіазолінону до *E. coli* показали, що саме сульфур та нітроген є хімічно активними ділянками молекули [40]. Інше дослідження повідомляє, що три (2H) -ізотіазолони, заміщені у 5-му положенні хлором, мають вищу ліпофільність у порівнянні з незаміщеними, і мають фунгіцидну дію [41]. Втрата хлору може знизити антимікробну активність. Крім того, помітна втрата активності також відзначається в присутності нуклеофільних реагентів (сульфгідрильних груп), що передбачає можливу усунення хлору такими групами [42].

Ці консерванти часто маскуються під хімічними назвами їх сумішей. Їх застосування зменшується через велику кількість алергічних реакцій, про які повідомляють дерматологи [39]. Після 6 липня 2017 року максимальна дозволена концентрація метилізотіазолінону була значно знижена (0,0015%) [43].

Відповідно до чинного законодавства, МСІ/МІ допускається в концентраціях до 15 ppm у всіх косметичних засобах в ЄС, а також у США у косметичних засобах, що змиваються, в той час як у косметична продукція, що не змивається повинна містити лише 7,15 ppm цього консерванту [44].

Бронопол (2-бром-2-нітропропандіол-1,3, Bronopol, Nipacide BNPD, Lexgard Bronopol) – раніше широко поширений консервант, застосування якого зараз обмежено в зв'язку з його передбачуваною роллю в утворенні канцерогенних нітроамінів. Це тверда кристалічна речовина, що плавиться з розкладанням при температурі близько 130°C. У твердій формі без доступу вологи він досить стабільний. В водному середовищі, особливо при $\text{pH} > 7$, бронопол розпадається з виділенням формальдегіду.

Сам бронопол і продукти його розщеплення володіють сильною фунгіцидною і бактерицидною дією, особливо у відношенні псевдомонад [45].

Рівень концентрацій, що використовується в рецептурах косметико-гігієнічних, побутових миючих засобів - 0,01-0,05%. Включення в рецептуру шампунів до 0,5% гідролізату колагену майже не впливає на його ефективність. Сірковмісні білки і амінокислотні компоненти здатні знизити його бактериостатичну активність в 2-64 разів. Бронопол не сумісний із сульфитами, тіогліколятами, тіосульфатами. Аніонні і неіонногенні ПАР практично не впливають на його ефективність, а з деякими оксиетиленованими алкілфенолами навіть можливий синергізм. Він проявляє синергізм з рядом катіонних ПАР і з трихлоркарбанилідом [46].

Бронопол входить до складу деяких синергічних композицій: з феноксиетанолом і парабенами (наприклад, в сумішевому консерванті Nipaguard VPX, Sharomix 300), з іодопропінілбутилкарбаматом (в Hydorol TLJ), з фунгіцидом Myacide SP (2,4-дихлорбензиловим спиртом).

У табл. 2.3 підсумовані властивості консервантів, що обговорювалися вище (дані взяті з [47]). Концентраційні інтервали застосування і максимально допустима концентрація наведені в розрахунку на активну

речовину.

Таблиця 2.3 – Властивості найбільш поширених консервантів

Консервант	Звичайний інтервал концентрації, %	Максимально допустима концентрація, %	МІС, ppm				Оптимальний інтервал рН
			Бактерії		Дріжджові гриби	Плісняві гриби	
			(+)	(-)			
п-Гідроксибензойної кислоти метиловий естер (метилпарабен)	0,1-0,2 (0,4)	0,4	1250	1250	5000	5000	4-7
п-Гідроксибензойної кислоти пропіловий естер (пропілпарабен)	0,02-0,2	0,4	180	625	625	2500	4-7
п-Гідроксибензойної кислоти етиловий естер (етилпарабен)	0,02-0,2	0,4	625	625	2500	5000	4-7
п-Гідроксибензойної кислоти бутиловий естер (бутилпарабен)	0,02-0,2	0,4	160	320	625	1250	4-7
2-Феноксietанол	0,5-2,0	2,0	2000	4000	5000	5000	4-7
Бензойна кислота і її солі	0,2-0,5	0,5	1000*	1500*	750*	750*	2-5
5-Хлор-2-метил-4-ізотіазолінон-3 і 2-метил-4-ізотіазолінон-3 (Kathon CG)	-0,0038 (0,04-0,1)**	(0,1)**	150	300	300	300	4-8

2-Бром-2- нітропропан- діол-1,3 (Bronopol)	0,01-0,05	0,1	70	70	50	50	5-7
--	-----------	-----	----	----	----	----	-----

* Мінімальні концентрації інгібування в розрахунку на кислоту.

** У дужках вказані концентрації по товарному продукту.

2.2. Принципи вибору консервантів і їх сумішей

До консервантів ставляться такі вимоги:

1. Вони повинні володіти широким спектром антимікробної дії.
2. Виявляти активність при досить низьких концентраціях і в широкому діапазоні рН.
3. У достатній кількості розчинятися в водній фазі.
4. Бути досить стійкими і, в той же час, здатні біологічно руйнуватися, бути нешкідливими для людини і навколишнього середовища.
5. Бути сумісними і стабільними по відношенню до інгредієнтів, що містяться в кремі, мазі, шампуні, зубній пасті чи іншому продукті, а також до матеріалу упаковки.

Остаточний вибір консерванту або суміші консервантів необхідно робити тільки після ретельного аналізу його ефективності для даної рецептури і для даної упаковки.

Оскільки псування продукту обумовлене великою кількістю видів мікроорганізмів, а більшість консервантів специфічно діє на окремі види мікроорганізмів, то створення комбінованих консервантів надає визначні переваги. Синергетична дія двох речовин можлива за рахунок того, що одна із речовин, діючи на мембрану клітини, полегшує проникнення в клітину іншої речовини, або один із консервантів знижує рН середовища. Використання комбінації консервуючих речовин дозволяє розробляти безпечні продукти і, в кінцевому рахунку, покращувати параметри збереження товарів. Цим також досягається зменшення дозування окремих компонентів з одночасним розширенням спектра антимікробної активності. За сучасними уявленнями, використовуючи різнотипні консерванти в певних

комбінаціях, можна досягти значного зниження концентраційного рівня, необхідного для ефективного захисту продукту [22].

Коли два або більше консервантів або інших антимікробних речовин поєднуються один з одним, то можливо існування 3-х типів ефектів.

1) Синергія: ефект консервантів у комбінації більше, ніж у консервантів, що використовуються окремо.

2) Антагонізм: вплив комбінованих консервантів менший, ніж у окремих консервантів, що використовуються окремо.

3) Адитивні ефекти: ефект від комбінованих консервантів такий же, як і для консервантів, що використовуються окремо [48].

Крім того, комбінація може також бути активною щодо ширшого спектру мікроорганізмів, ніж коли консерванти використовуються окремо.

Ефект суміші консервантів можна досліджувати в тестуванні методом шахової дошки [48, 49]. Це аналіз серійного розведення, в якому концентрації консервантів варіюють від значення МІС або трохи вище для кожного консерванту до нуля. На основі видимого гальмування росту можна розрахувати дробову інгібуючу концентрацію (FIC), яка вказує, чи є суміш синергічною чи ні [48]. FIC - це сума кожного значення МІС консерванту, отриманого в комбінації з іншими консервантами, поділене на значення МІС консервантів, що використовуються окремо:

$$FIC = (MIC_{ab}) / (MIC_a) + (MIC_{ab}) / (MIC_b),$$

де MIC_{ab} - значення МІС консерванту a у комбінації з консервантом b , а MIC_a та MIC_b - значення МІС консервантів a та b , що використовуються окремо.

За даними Американського товариства мікробіології (ASM) наступні значення FIC свідчать про синергію ($FIC \leq 0,5$), байдужість/адитивні ефекти ($FIC > 0,5$ та ≤ 4) або антагонізм ($FIC > 4$) [49].

Незважаючи на велику різноманітність консервантів, синергетичний або антагоністичний ефект їх комбінацій не визначений і залишається проблемою при створенні фармацевтичної та косметичної продукції [50]. У

роботі [50] описаний метод пошуку оптимального складу суміші парабенів з урахуванням температури і часу експозиції культурального середовища. У якості експериментальних даних автори пропонують використовувати електричний метод, що базується здатності виявляти зміни хімічного складу культуральних середовищ, пов'язаних з ростом мікробів, використовуючи електричні сигнали, такі як ємність, провідність та імпеданс. У якості математичних методів використовують регресійний аналіз. Цей метод дозволяє кількісно оцінити і зіставити велику кількість взаємозв'язків і можливих варіантів на основі чіткого математичного алгоритму і обрати найкращий варіант суміші.

Фірмою Schulke & Maug пропонується консервант Euxyl PE 9010, призначений, в основному, для використання в незмивних засобах. Цей патентований рідкий концентрат складається з феноксиетанолу (активного консервуючого інгредієнту) та розчиненого в ньому етилгексилгліцерину (багатофункціональної добавки). Етилгексилгліцерин підвищує проникність мембрани бактеріальної клітини, що дозволяє істотно збільшити ефективність антимікробної дії феноксиетанолу [35, 51].

У ряді випадків консервант Euxyl PE 9010 проявляє синергізм з комплексоутворюючими агентами, типу ЕДТА, тетранатрій карбоксиметилглутамату і лимонної кислоти. Він ефективно пригнічує ріст мікроорганізмів в концентрації 0,5-1,0% і рекомендований до використання в змивних і незмивних засобах, а також при виготовленні вологих серветок [51].

У косметичі і фармпрепаратах місцевого застосування феноксиетанол переважно використовують в поєднанні з парабенами, бензойною, сорбіновою і дегідроацетовою кислотами, з 2-етилгексилгліцеріном, сорбітанкаприлатом, каприліл гліколем та іншими синергістами [52, 53].

Суміш Sharomix 300 є комбінацію парабенів та бронополів у феноксиетанолі, і представляє потужну систему консервування, охоплюючи увесь спектр мікроорганізмів [30]. Ця суміш застосовується при виготовленні

вологих серветок, змивних і незмивних косметичних засобів. Sharomix 300 зберігає свою активність у присутності білків і є сумісним з різними поверхнево-активними речовинами. Sharomix 300 залишається ефективним при рН 4,5 до 8,5, розчинний у воді до 0,5%. Рекомендується попередньо розчинити його в пропиленгліколі при використанні у засобах на водній основі. Типовими концентраціями вживання є діапазон від 0,3% до 0,7%.

2.3. Дослідження антимікробної активності консервантів

У випробуваннях ефективності антимікробних консервантів за допомогою тест-мікроорганізмів повинно бути доведено зменшення числа життєздатних мікроорганізмів, у відповідності до вимог [54, 55]. Дослідження необхідно проводити в асептичних умовах.

Контейнер із випробовуваним консервантом, інокують суспензією, що містить один з тест-мікроорганізмів, забезпечуючи мікробне навантаження від 10^8 КУО в 1 мл препарату. Ретельно перемішують для рівномірного розподілу мікроорганізмів у зразку. Інокульовані зразки витримують у захищеному від світла місці при температурі від 20°C до 25°C та при температурі від 2 °C до 8 °C. Після контамінації макроорганізмами, зразок досліджуваного консерванту через певні проміжки часу висівають на агар для визначення числа життєздатних клітин. Відсутність росту на агарі або незбільшення кількості колоній після 14 днів інкубації вказує на те, що розроблений консервант відповідає вимогам. Дослідження проводять в динаміці: у свіжовиготовлених зразках та через 2, 7, 14 і 28 діб [56].

Ефективність консервантів у готовому засобі вважають задовільною, якщо за умов проведення випробування, при зберіганні інокульованих зразків при заданій температурі, протягом зазначених проміжків часу спостерігається значне зменшення або не спостерігається збільшення числа мікроорганізмів, у залежності від вимог до готового засобу. Антимікробну активність виражають у вигляді логарифму зменшення числа життєздатних мікроорганізмів по відношенню до визначеного вихідного числа мікроорганізмів [56].

Загибель всіх мікроорганізмів при використанні звичайних концентрацій консерванту, зазначених у нормативній документації, відбувається протягом декількох днів або тижнів. Залежність швидкості загибелі мікроорганізмів під дією консервантів від часу описується рівнянням для мономолекулярного процесу і залежністю числа мікроорганізмів від часу [57, 58]:

$$K = \frac{\ln\left(\frac{Z_0}{Z_t}\right)}{t}$$

$$Z_t = Z_0 e^{-Kt}$$

де K – константа швидкості загибелі мікроорганізмів;

t – час; Z_0 – число живих клітин у початковий момент ($t=0$);

Z_t – число живих клітин у момент часу.

У відповідності до вимог ДФУ [59], в препаратах для місцевої дії використовується логарифм зменшення числа життєздатних колоній бактерій, через дві доби він повинен складати не менше двох, через сім діб — не менше трьох, у подальшому число життєздатних клітин бактерій не повинне збільшуватися. Логарифм зменшення числа життєздатних клітин грибів за 14 діб не повинен складати не менше двох. Ці показники відповідають критерію «А».

У відповідності до критерію «В» у препаратах для місцевого застосування логарифм кількості життєздатних колоній за 14 діб повинен складати не менше трьох, у подальшому число життєздатних колоній не повинне збільшуватися. Логарифм зменшення числа життєздатних грибів за 14 діб повинен складати не менше 1 та в подальшому не збільшуватися.

Матеріали:

1. Поживні середовища: соєво-казеїновий агар, сабуро-декстрозний агар.

2. Розчини: буферний розчин із натрію хлоридом та пептоном рН=7,0, який містить 50 г/л полісорбату-80, 5 г/л лецитину, 1 г/л гістидину гідрохлориду.

3. Тест-мікроорганізми. Приготування інокуляту проводять згідно вимог ДСТУ.

Перед дослідженнями проводять досліди на відповідність ростових властивостей поживних середовищ. Поживні середовища інокують невеликою кількістю тест-штамів мікроорганізмів ($10-10^2$) колонієутворювальних одиниць на мл середовища –КУО/мл. Вихідну культуру кожного із зазначених тест-мікроорганізмів пересівають на поверхню густого соєво-казеїнового поживного середовища при вирощуванні бактерій (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*), а при вирощуванні грибів (*Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*) – на густе поживне сабуро-декстрозне середовище без додавання антибіотиків. Проводять перевірку стерильності поживних середовищ, розчинника та перевірку ростових властивостей поживних середовищ.

Результати одержані при підрахунку кожного з тест-мікроорганізмів у присутності та за відсутності випробовуваного зразка повинні відрізнятися не більше як у 1,12 раз, що відповідає критерію прийнятності. Таким чином, метод поверхневого висівання на чашки по 1 мл з розведення препарату 1:10 (відповідно та подальших десятикратних розведень 1:100, 1:1000 тощо) з використанням розчинника буферного розчину із натрію хлоридом та пептоном рН=7,0, який містить 50 г/л полісорбату-80, 5 г/л лецитину, 1г/л гістидину гідрохлориду, придатний для визначення кількості мікроорганізмів у 1 мл препарату та може використовуватися при проведенні випробування ефективності антимікробних консервантів.

Метод дифузії в агар заснований на здатності активно діючих речовин дифундувати в агар, який засівають заздалегідь культурами макроорганізмів. Для дослідження використовували агар Мюлер-Хінтона. Метод дифузії

препарату в агар проводять у двох модифікаціях – метод стандартних дисків [60, 61] та метод «колодязів» [61-63].

Найчастіше користуються методом стандартних дисків (метод дифузії в агар, диско-дифузійний метод). Для цього на поверхню спеціального щільного живильного середовища в чашках Петрі засівають культуру мікроорганізмів і накладають паперові диски, просочені засобами з консервантами. Посіви інкубують при оптимальній температурі 18-24 год і вимірюють зони затримки росту бактерій навколо дисків з антибіотиками. За розмірами цих зон визначають належність бактерій до чутливих, помірно резистентних або стійких штамів.

Визначення активності препаратів проводять на двох шарах щільного живильного середовища, розлитого в чашки Петрі. У нижньому шарі використовують голодне незасіяне середовище (агар-агар, вода, солі). Нижній шар уявляє собою підложку висотою 10 мм, на яку суворо горизонтально встановлюють 3-6 тонкостінних циліндри з неіржавіючої сталі діаметром 8 мм та висотою 10 мм. Біля циліндрів заливають верхній шар, який складається з живильного агаризованого середовища, розплавленого та охолодженого до 40°C, в яке вносять відповідний стандарт добової культури тест-мікроба. Попередньо верхній шар добре перемішують до утворення однорідної маси. Після застигання циліндри стерильним пінцетом витягують та в лунку, що утворилася, занурюють зразки засобу, який досліджується (з рахунком його об'єм 0,3 мл). Об'єм середовища для верхнього шару коливається від 14 мл до 16 мл. Чашки підсушують 30-40 хв. при кімнатній температурі та витримують у термостаті 18-24 год.

При оцінці нових антибактеріальних речовин, а також при вивченні стійкості штамів користуються наступними критеріями:

- відсутність зон затримки росту макроорганізмів біля лунки, а також зони затримки до 10 мм вказують на те, що мікроорганізм нечутливий до внесеного в лунку зразка гелів;

- зони затримки росту діаметром 10-15 мм вказують на малу чутливість культури до концентрації досліджуваного консерванту;
- зони затримки росту діаметром 15-25 мм розцінюються як показник чутливості мікроорганізму до зразків гелю, що досліджується;
- зони затримки росту, діаметр яких не перевищує 25 мм, свідчать про високу чутливість мікроорганізмів до засобу, що вивчається.

Критеріями активності вихідних агентів та розведень композитів є мінімальна інгібуюча концентрація. Для визначення МІС застосовують метод серійних розведень, при якому розведений у різних встановлених концентраціях консервант додають у пробірки разом зі стандартизованою кількістю мікроорганізмів. За МІС вважається концентрація консерванту у пробірці, яка після інкубаційного періоду залишилася прозорою, тобто, у якій концентрації консерванту було достатньою, щоб запобігти росту бактерій [64]. Застосування цього методу для визначення МІС парабенів та їх сумішей обговорюється у [65, 66].

2.4. Аналітичні методи визначення вмісту консервантів у косметичних засобах

Для контролю за вмістом парабенів у споживацьких товарах використовуються методи високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [4-5] із спектрофотометричним [6-8] або флуориметричним детектуванням [9], газорідинної хроматографії, газової хроматомас-спектрометрії, капілярної [10] та мікроемульсійної [11, 12], електрокінетичної, міцелярної рідинної хроматографії [6,13], капілярний електрофорез у поєднанні з мас-спектрометрією [14], а також спектрофотометричний метод і потенціометричне кислотно-основне титрування [15]. Метод ВЕРХ рекомендований як основний для визначення парабенів у косметичних засобах. При використанні ВЕРХ для аналізу кремів пряме введення проби неможливо, тому що кремова основа забиває колонку і скорочує час її життя. Для усунення цих перешкод пропонуються різні варіанти екстрагування парабенів з косметичних засобів – рідинне та твердофазне [16].

Використання дисперсійної рідинної мікроекстракції для подальшого газохроматографічного визначення парабенів запропоновано в [17]. Представленим методом аналізуються зразки фармацевтичних препаратів, косметичних засобів та стічних вод.

Для попереднього скринінга проби при аналізі косметичних препаратів на вміст консервантів і для напівкількісного визначення парабенів може використовуватися простий і достатньо швидкий метод тонкошарової хроматографії (ТШХ) [18]. При цьому розділення проводять на сорбентах різної природи - силікагелі, оксиді алюмінію, поліаміді, целюлозі, а також на суміші сорбентів - силікагелі з поліамідом, целюлозі з поліамідом і ін. Часто в нерухому фазу вводять флуоресцентний індикатор, що володіє інтенсивною люмінесценцією в УФ-області з максимумом при $\lambda = 254$ нм. В якості елюантів використовують суміші розчинників. Парабени виявляють на пластинках за наявності темних плям на яскраво флуоресціюючому фоні сорбенту з індикатором УФ254 або при отриманні забарвлених сполук, наприклад шляхом обприскування платівки розчинами різних реагентів, наприклад, антипірину або цианоферату калію [18].

Поділ парабенів на пластинках з силікагелем запропоновано [18] проводити з рухомою фазою, серед яких використовують пентан, крижану оцтову кислоту, петролейний етер, чотирихлористий карбон, хлороформ, мурашину кислоту, в співвідношенні об'ємів 50: 40: 20: 8: 2. На хроматограмі речовини розташовані в послідовності відповідно до їх молекулярної маси: від більшого значення до меншого. Розподіл похідних п-ГБК на зазначених хроматографічних пластинах істотно залежить від кількості води у рухливій фазі і не залежить від кислотності систем розчинників.

РОЗДІЛ ІІІ

МЕТОДИ

Дослідження проводились за допомогою методу серійних розведень. В пробірку вносили 2 мл поживного середовища, 2 мл досліджуваного консерванту заданої концентрації і 2 мл суспензії мікроорганізмів. При вимірюванні оптичної густини за «0» вважали суміш 4 мл поживного середовища та 2 мл консерванту заданої концентрації. Для контролю готували пробірку, куди вносять усі складові, окрім консерванту: 2 мл поживного середовища, 2 мл суспензії мікроорганізмів та 2 мл води. При вимірюванні оптичної густини за «0» вважали суміш 4 мл поживного середовища та 2 мл води. Таким чином, загальний об'єм кожної пробірки складав 6 мл і вихідна концентрація консерванту зменшувалась в три рази. Тому, для полегшення розрахунків всі вихідні концентрації брали кратними трьом. Усі досліди проводили у двократному повторюванні для забезпечення відтворюваності. Зменшення оптичної густини розчину свідчить про те, що консервант виконав свою функцію та інгібував ріст мікроорганізмів. Концентрацію консерванту, при якій оптична густина досліджуваної суспензії дорівнює або близька до нуля, вважали мінімальною інгібуючою концентрацією (МІК). Наважку консерванту доводили до потрібної концентрації водою. Добре перемішували і відбирали необхідну кількість для приготування розчинів нижчих концентрацій. Кожну пробірку підписували і додавали спочатку консервант у заданій концентрації, воду (де потрібно), потім – поживне середовища, останнім додавали бактеріальну суспензію. Усі пробірки поміщали у термостат за температури 37⁰ С на 24 год. Наступного дня проводили вимірювання оптичної густини на ФЕК та посів на ендосередовище.

В якості поживного середовища використовували м'ясо-пептонний бульйон (МПБ). Його розчин готували згідно з інструкціями виробника, вказаними на упаковці.

Для приготування суспензії мікроорганізмів використовували бактеріальну культуру *Escherichia coli*. Для цього за допомогою петлі проводили посів у пробірку з МПБ, інкубували за температури 37⁰ С протягом 24 год. Після цього культуру розводили до показника 0,5 за шкалою МакФарланда шляхом додавання необхідну кількість поживного середовища. Для приготування зразка стандарту 0,5 змішували 0,5 мл BaCl₂ та 9,95 мл H₂SO₄. Оптична густина такої суспензії становить 0,055 при $\lambda=540$ нм і відповідає мутності бактеріальної суспензії, що містить 10⁸ КУО в 1 мл. Паспорт тест – об'єкту: штаму *E. coli* наведено у Додатку А.

Розчини готували в стерильних умовах. Весь посуд, а також вода попередньо стерилізували гарячою парою в автоклаві. Вимірювання оптичної густини проводили на колориметрі фотоелектричному концентраційному КФК -2 за довжини хвилі $\lambda=540$ нм.

Посів на елективне середовище Ендо проводили для додаткового підтвердження результатів дослідження. Середовище Ендо готували згідно з інструкціями виробника, наведеними на упаковці, розливали у чашки Петрі, залишали на певний час для застигання, потім за допомогою петлі наносили вміст досліджуваних пробірок на поверхню середовища Ендо. Чашки Петрі ставили у термостат за температури 37⁰ С на 24 год. За наявністю або відсутністю росту бактеріальних колоній візуально визначали мінімальну концентрацію консерванту, за якої ріст мікроорганізмів не спостерігався. На середовищі Ендо колонії кишкової палички виростають темно-зеленого кольору, при цьому саме середовище набуває насиченого малинового кольору.

РОЗДІЛ IV
РЕЗУЛЬТАТИ

Показники оптичної густини суспензій D (середнє значення) та результати посіву на елективне середовище наведені в таблиці 4.1.

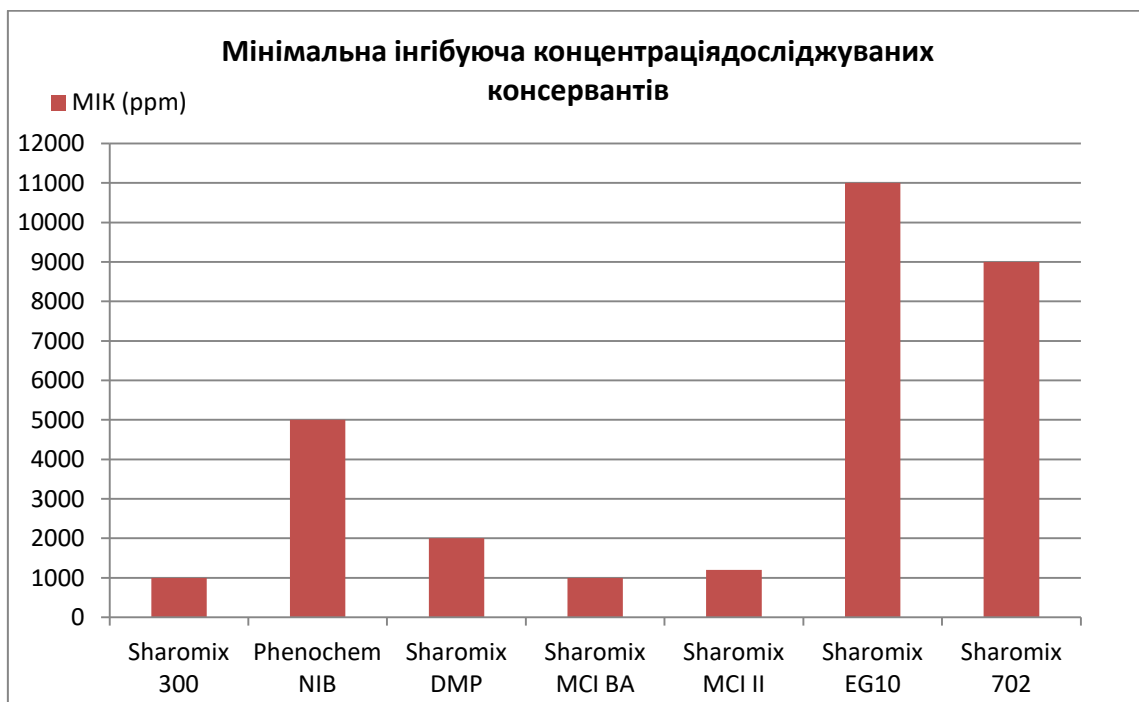
Таблиця 4.1 - Дія консервуючих композицій в різних концентраціях на *Esherichia coli*

Sharomix 300							
	Контроль	500ppm	750ppm	1000ppm	1200 ppm		
D	0,4±0,02	0,24±0,02	0,15±0,01	0	0		
Ендо	+	+	+	-	-		
Phenochem NIB							
	Контроль	500ppm	1000ppm	1500 ppm	3000 ppm	4000ppm	5000 ppm
D	0,46±0,01	0,44±0,02	0,36±0,03	0,21±0,01	0,15±0,01	0,13±0,01	0,03±0,01
Ендо	+	+	+	+	+	+	-
Sharomix DMP							
	Контроль	300ppm	500ppm	1000 ppm	1500 ppm	2000ppm	
D	0,43±0,01	0,21±0,03	0,19±0,01	0,18±0,01	0,06±0,01	0,01±0,01	
Ендо	+	+	+	+	+	-	
Sharomix MCI BA							
	Контроль	100ppm	300ppm	500ppm	1000 ppm		
D	0,39±0,03	0,33±0,01	0,29±0,02	0,19±0,01	0,02		
Ендо	+	+	+	+	-		

Sharomix MCI II							
	Контроль	100ppm	300ppm	1000ppm	1200ppm	1300ppm	1500 ppm
D	0,58±0,05	0,62±0,03	0,47±0,03	0,15±0,03	0,05±0,01	0,05±0,03	0,03±0,01
Ендо	+	+	+	+	-	-	-
Sharomix EG10							
	Контроль	9000ppm	10000ppm	11000 ppm			
D	0,36±0,02	0,25±0,03	0,2±0,05	0,1±0,01			
Ендо	+	+	+	-			
Sharomix 702							
	Контроль	5000 ppm	7000 ppm	9000 ppm			
D	0,45±0,05	0,09±0,03	0,07±0,02	0,01±0,02			
Ендо	+	+	+	-			

Порівняння мінімальних інгібуючих концентрацій досліджених консервантів представлено на рис. 4.1.

Рисунок 4.1 - Порівняння мінімальних інгібуючих концентрацій досліджених консервантів



РОЗДІЛ V

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Було досліджено 7 консервантів під торговими назвами Sharomix 300, Phenochem NIB, Sharomix DMP, Sharomix MCI BA, Sharomix MCI II, Sharomix EG10 та Sharomix 702. Усі вони виявилися ефективними проти грамнегативної бактерії *Escherichia coli*. Втім концентрації, при якій досягається інгібуючий ефект, різні, що можна пояснити різним компонентним складом досліджених консервантів, і відповідно, різним синергетичним ефектом, що проявляється.

Найбільш ефективними виявились консерванти Sharomix 300 та Sharomix MCI BA, які проявили інгібуючу дію за концентрації 1000 ppm. Найменш ефективними – консерванти - Sharomix EG10 та Sharomix 702, які проявили інгібуючий ефект за концентрацій 11 000 та 9 000 ppm відповідно.

Консервант Sharomix 300 має широкий спектр антибактеріальної дії і може застосовуватись практично у всіх видах косметики та побутової хімії. Sharomix 300 містить у своєму складі метилпарабен та пропілпарабен, що можуть проявляти подразнюючу дію на шкіру людини та слизові оболонки [22]. Даний консервант не рекомендовано додавати до складу засобів по догляду за ротовою порожниною (зубна паста, рідина для ополіскування тощо) [Додаток Б].

Консерванти Sharomix MCI BA та Sharomix MCI II можуть бути застосовані при виробництві косметичних засобів, що змиваються, таких як шампунь, рідке мило, кондиціонер для волосся, маска для лица тощо. Ці консервуючі суміші містять у своєму складі метилхлорізотіазолінон та метилізотіазолінон, які можуть викликати подразнення шкіри при тривалому впливі, тому їх застосування у косметичних засобах, що не змиваються не рекомендується.

Консерванти Phenochem NIB та Sharomix DMP проявили середню мікробіологічну активність. Їх застосовують при виробництві практично всіх косметичних засобів [Додаток Б].

Sharomix EG10 є інноваційною консервуючою сумішшю, яка не містить галогенів, формальдегіду та парабенів, тобто вважається безпечною для людини. Очевидно, внаслідок цього, мінімальна інгібуюча концентрація даного консерванту дещо вища (11 000 ppm) , ніж у інших консервантів, зокрема парабенівмісних консервуючих сумішей. Такий консервант можна використовувати для виробництва будь-яких косметичних засобів.

Sharomix 702 є представником м'яких і «зелених» консервуючих сумішей, що мають широкий спектр дії. Він, як і Sharomix EG10, не містить галогенів, формальдегіду, парабенів, метилхлорізотіазолінону та метилізотіазолінону. Цей консервант може використовуватись при виробництві будь-яких косметичних засобів, окрім декоративної косметики.

Консерванти, що мають низьку антибактеріальну активність рекомендують вводити у косметичні продукти у суміші з іншими консервантами для підвищення антибактеріальної активності за рахунок синергетичного ефекту і уникнення можливих негативних ефектів завдяки зниженню мінімальної інгібуючої концентрації.

Порівняння хімічного складу найбільш та найменш ефективних консервуючих сумішей. Як уже зазначалось раніше, найбільш ефективним консервантом виявився Sharomix 300, мінімальна інгібуюча концентрація якого становить 1 000 ppm, а найменш ефективним - Sharomix EG10, мінімальна інгібуюча концентрація якого дорівнює 11 000 ppm. За хімічним складом Sharomix 300 являє собою суміш метилпарабену (13,5 – 16,5%), пропілпарабену (4,5 – 5,5%) і бронополу (4,5 – 5,5%) в 2-феноксиетанолі (73 – 77%) [Додатки В і Г]. Хімічні формули складових компонентів даного консерванту наведені на рис. 5.1 – 5.4. Sharomix EG10 є сумішшю 2-феноксиетанолу (88,5 – 91,5%) і етилгексилгліцерину (8,5 – 11,5%) [Додатки В і Д]. Хімічні формули складових компонентів наведені на рис. 5.4 і 5.5.

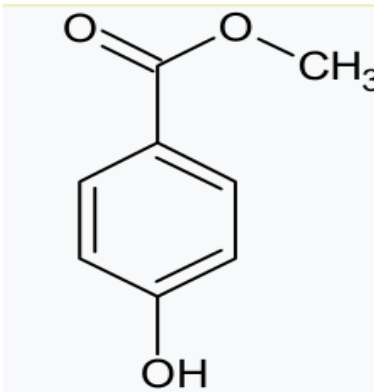


Рис. 5.1 – Структурна формула метилпарабену

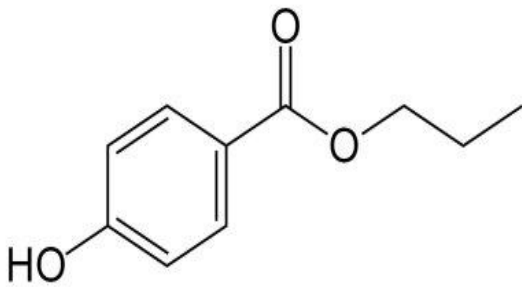


Рис. 5.2 – Структурна формула пропілпарабену

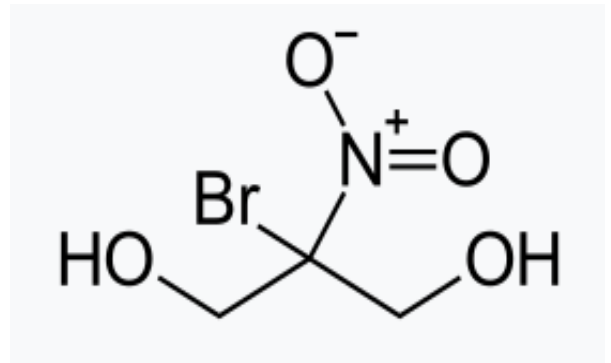


Рис. 5.3 – Структурна формула бронополу

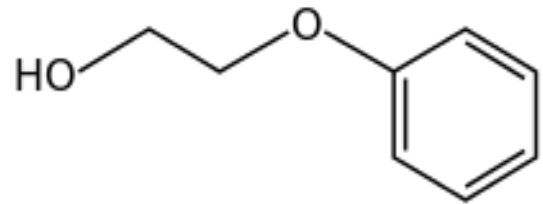


Рис. 5.4 – Структурна формула 2-феноксietанолу

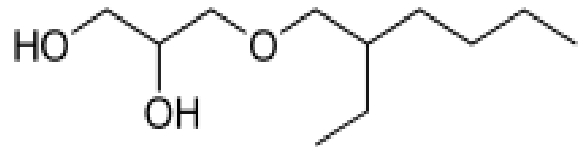


Рис. 5.5 – Структурна формула етилгексилгліцерину

Парабени ефективно гальмують ріст мікроорганізмів, зокрема стафілококів, а також діють на дріжджові гриби. Ефективність парабенів в якості консервантів пояснюють їх бактерицидними і фунгіцидними властивостями. Вони порушують проникність цитоплазматичної мембрани клітини мікроорганізму або гриба, в результаті чого змінюється транспортна функція мембрани, необхідні для життєдіяльності речовини (глюкоза і пролін) не потрапляють всередину клітини, а шкідливі продукти обміну не виводяться, що і призводить до загибелі мікроорганізму. За деякими іншими даними [22], парабени вступають в конкуруючі реакції з ферментами бактерій. За даними [21] парабени реагують з вільними амінокислотами з відщепленням води (рис. 5.6). Потім ці амінокислоти більше не доступні в

достатній кількості для біосинтезу білка. Подальший ефект парабенів ґрунтується на реакції з двома кислими амінокислотами (глутаміною та аспарагіною). Вільна карбоксильна група в білковому ланцюзі також здатна реагувати з парабеном, що може порушувати конформацію білка. Реакція аналогічна реакції між парабенами та вільними амінокислотами. Отже, тривимірна структура ферменту не може зв'язуватися з рецепторами. Дефектні ферменти можуть інактивувати метаболізм бактеріальної клітини і приводити до загибелі клітини.

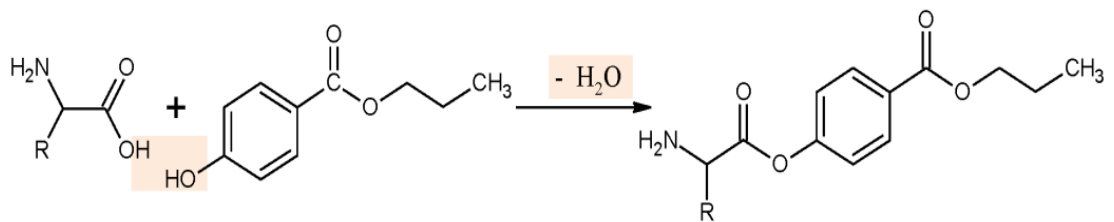


Рис. 5.6. Реакція між С-кінцевою амінокислотою та пропілпарабеном [21].

Бронопол активний як проти грамполозитивних, так і проти грамнегативних бактерій. Його антибактеріальна ефективність пов'язана з блокуванням тіол вмісних ферментів, зміною структури клітинної мембрани, що призводить до порушення проникності і, в кінцевому результаті, до руйнування бактеріальної клітини [18].

Механізм дії 2-феноксietанолу полягає у порушенні клітинної стінки та цитоплазматичних мембран мікроорганізмів. Також доведено наявність синергетичного ефекту 2-феноксietанолу з парабенами [23].

Етилгексилгліцерин впливає на міжфазний натяг клітинної мембрани мікроорганізмів, що дозволяє іншим консервуючим речовинам краще проникати всередину клітини. Етилгексилгліцерин використовують тільки у поєднанні з іншими консервантами, оскільки він не може самотійно забезпечити повноцінний бактеріальний захист косметичного засобу [21].

Таким чином, суміш парабенів з бронополом в феноксietанолі (консервант Sharomix 300) виявилась набагато ефективнішою у боротьбі з

мікроорганізмами, аніж суміш 2-феноксietанолу з етилгексилгліцерином (Sharomix EG10). Цей результат можна пояснити синергетичним ефектом, а також більшою концентрацією власне консервуючих речовин у першому консерванті.

РОЗДІЛ VI

РОЗРОБЛЕННЯ СТАРТАП-ПРОЕКТУ

1. Вступ

Назва – «Стартап у лабораторному впровадженні»

Темою стартап-проекту є створення лабораторії з аналізу мікробіологічної ефективності консервантів, що використовують при виробництві косметичної продукції.

Метою стартап-проекту є створення підприємства, що надаватиме послуги промисловим клієнтам з визначення ефективності консервантів, та отримання прибутку.

Суб'єктом замовлення є підприємства, що виробляють косметичну продукцію.

Об'єктом дослідження є консерванти, що використовуються при виробництві косметичних засобів.

У інноваційному ланцюжку цінності стартап-проект знаходиться на стадії розробки.

Продуктом стартап-проекту є послуги з визначення мікробіологічної активності консервантів.

Технологія – проведення аналізу за допомогою суспензійного та дифузійного методів.

Джерела сировини - сировина як така непотрібна, тільки реагенти, які будуть закупатися в українських фірм «Отава» та «Укрхіманаліз»

Кваліфікація персоналу – висококваліфіковані працівники зі ступенем «бакалавр» або «магістр» у сфері хімії, біотехнологій або мікробіології.

Споживач – підприємства, що виробляють косметичну продукцію.

Ринок збуту - хімічна промисловість, зокрема косметична галузь.

Конкурентні переваги - надвисока точність результатів, швидкість виконання досліджень, впровадження нових технологій.

Вартість розробки - 684 671,668 грн.

Ринкова ціна – 1 000 грн за проведення одного аналізу.

Період повернення капіталовкладень – 6,94 років (ці показники розраховано нище).

Таблиця 6.1 – Запланований обсяг послуг

	Січень 2010	Лютий 2010	Березень 2010	Квітень 2010	Травень 2010	Червень 2010	Липень 2010	Серпень 2010	Вересень 2010	Жовтень 2010	Листопад 2010	Грудень 2010
Запланований обсяг	20	30	40	50	50	50	50	50	50	50	50	50

Таблиця 6.2 – Резюме стартап-проекту

Показник	Характеристика
1. Ідея	Створення лабораторії з аналізу мікробіологічної активності консервантів, що використовуються при виробництві косметичної продукції.
2. Основна потреба, яку задовольнить реалізований стартап	Потреба промислових виробників (фабрики, що випускають косметичну продукцію) у виборі ефективних консервантів для забезпечення високої якості продукції.
3. Класифікація продукту стартапу за міжнародною класифікацією товарів	420007 – хімічний аналіз
4. Місце ідеї у ланцюжку цінностей	Розробка

інноваційного процесу	
5. Гранична корисність ідеї стартапу	Споживач на відносно невисоку ціну отримує точне визначення ефективності консерванту, що дозволяє правильно розробити рецептуру косметичного засобу, забезпечити його якість, і уникнути нераціонального використання коштів на неефективні консерванти.
6. Бізнес-модель стартапу	<p>1 етап: створення ідеї;</p> <p>2 етап: оренда приміщення, закупівля обладнання та сировини;</p> <p>3 етап: розробка методів аналізу;</p> <p>4 етап: проходження сертифікації та отримання відповідних документів;</p> <p>5 етап: реклама майбутнього підприємства;</p> <p>6 етап: прийняття та обробка перших замовлень;</p> <p>7 етап: вихід на ринок;</p> <p>8 етап: аналіз та обговорення результатів попередніх етапів. Налагодження робочого процесу.</p>
7. Прототипи ідеї (ціна, на якому етапі реалізації знаходяться)	<p>Прототипом ідеї стала компанія SHARON Laboratories, яка спеціалізується на випуску консервантів для косметичної промисловості.</p> <p>Одним із найважливіших показників якості консерванту є його мікробіологічна активність.</p> <p>Втім, компанія має обмежені можливості аналізування консервантів, внаслідок нестачі технологій.</p>
8. Аналоги ідеї (ціна, на якому етапі	В Україні та закордоном уже існують лабораторії, що спеціалізуються на мікробіологічному аналізі і

реалізації знаходяться)	знаходяться на стадії виробництва та реалізації послуг. Вартість – середній та високий ціновий діапазон.
9. Конкуренти вітчизняні (ціна, на якому етапі реалізації знаходяться, основні конкурентні переваги, фактори успіху)	Українські конкуренти – фірми «Отава» та «Укрхіманаліз» знаходяться на етапі надання послуг за добре відомими технологіями. Конкурентні переваги та фактори успіху – хороша репутація у потенційних споживачів, доступність послуг та відносно точні результати. Ціна на аналогічний аналіз: «Отава» - 1 200 грн; «Укрхіманаліз» - 900 грн.
10. Конкуренти іноземні (ціна, на якому етапі реалізації знаходяться, основні конкурентні переваги, фактори успіху)	Іноземні конкуренти - PacificLab знаходиться на етапі надання послуг за добре відомими технологіями. Конкурентні переваги та фактори успіху – хороша репутація у потенційних споживачів, висока точність результатів аналізу, можливість проведення аналізу у екстреному режимі. Ціна на аналогічний аналіз: \$100.
11. Ключові фактори успіху стартапу	Надвисока точність результатів, швидкість виконання досліджень, а також впровадження нових технологій.
12. Споживачі (основні на етапі впровадження, групи, орієнтовна чисельність)	Промислові підприємства, що виготовляють косметичну продукцію. Орієнтовна чисельність – 20.
13. Планова кількість	Планова кількість проведених аналізів у першому

продукту розробки для першого етапу реалізації	місяці після запуску стартап-проекту – 20.
14. Мінімальна кількість виробництва за методом точки беззбитковості	540 аналізів на рік.
15. Споживачі на етапі розвитку	Промислові підприємства, що виготовляють косметичну продукцію. Орієнтовна чисельність – 30 – 40.
16. Споживачі на етапі зрілості	Промислові підприємства, що виготовляють косметичну продукцію. Орієнтовна чисельність – 50.
17. Конкурентна ціна на продукт стартапу	1 000 грн.
18. Плановий рівень рентабельності при реалізації продукту	29,57%
19. Капітоловкладення в проект	684 671,668 грн.
20. Строк окупності проекту	6,94 роки.
21. Джерела фінансування	Особисті заощадження (на початкових етапах розвитку стартап-проекту), згодом – бізнес-інкубатор iHub.
22. Основні	Компоненти продукції визначити неможливо,

<p>компоненти продукції стартапу (їх доля у готовому товарі, ступінь готовності компонентів у наявному виробництві)</p>	<p>оскільки сфера діяльності стартап-проекту – надання послуг. Для цього потрібно тільки лабораторне обладнання та реагенти для проведення аналізу, такі як поживне середовище та штами тест-культур.</p>
<p>23. Потенційні постачальники складових компонентів розробки (виділити вітчизняних і закордонних, плановий обсяг замовлень, наявна потужність постачальника)</p>	<p>Лабораторне обладнання та поживне середовище буде закупатись у ПП «Система Оптимум», що реалізовує поживні середовища, хімічні реактиви та лабораторне обладнання імпортованих виробників. Плановий обсяг замовлень – 3 кг на рік. Штами тест-культур (одноразово, оскільки потім їх розводять самостійно) стартап-проект купить у Держаного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів. Обидва постачальники володіють потужностями, цілком достатніми для того, щоб забезпечити потреби стартап-проекту.</p>
<p>24. Планове місце реалізації результату розробки (місце, планова доля реалізації продукту через це місце)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Сайт підприємства 2. Сторінки в соціальних мережах.
<p>25. Наявність посередників при</p>	<p>Посередники відсутні.</p>

реалізації (так, ні, орієнтовні посередники, форми оплати їх діяльності)	
26. Методи просування результатів розробки на ринок - Пропаганда - Реклама - Особистий продаж - Стимулювання збуту	Просування результатів розробки відбуватиметься за допомогою: 1. Реклами (соціальні мережі (Facebook, Instagram). 2. Участь у виставках, семінарах, форумах відповідної тематики.

2. Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища стартапу

Таблиця 6.3 – Аналіз загроз і можливостей зовнішнього середовища

	Загрози	Можливості
Політичні фактори		
Співпраця з Європейським Союзом, укладення договорів про кооперацію	Вхід іноземних конкурентів на ринок	Отримання інвестицій Перейняття досвіду у іноземних колег
Економічні фактори		
Отримання кредиту від банку	Прибуток ітиме на оплату кредиту від високими відсотками, неможливість	Розвиток бізнесу, придбання необхідного обладнання, залучення нових клієнтів, і як

	виконання кредитних зобов'язань	наслідок, отримання прибутків.
Підвищення податків	Оскільки клієнтами нашого підприємства є інші підприємства (B2B) підвищення податків призведе до зниження попиту на наші послуги, і як наслідок, до зниження прибутків.	Можливість отримання субсидій від держави.
Інфляція	Знецінення грошових активів	Можливість заробити на різниці у курсу валют.
Соціальні фактори		
Підвищення рівня освіченості населення	Поява нових конкурентів	Забезпечення необхідною кількістю висококваліфікованих працівників. Можливість проведення інноваційної діяльності, і як наслідок, підвищення якості послуг, залучення нових клієнтів, збільшення прибутків.
Технологічні фактори		
Розвиток науки і техніки	Неможливість встигати за розвитком науки, застаріле обладнання і техніка	Створення нових технологій, що дозволять збільшити ефективність праці і підвищити прибутки.

Правові фактори		
Необхідність збору численних документів для відкриття бізнесу	Затримка і перешкоди у запуску стартап-проекту через бюрократичні процедури	Наявність всіх документів гарантує налагодженість робочого процесу і може служити гарантом якості для потенційних клієнтів.

Таблиця 6.4 – Аналіз факторів зовнішнього оперативного середовища

Фактор	Переваги	Недоліки
Конкуренти		
1. Фірма «Отава»	1. Хороша репутація у потенційних споживачів. 2. Висока здатність виконувати замовлення вчасно.	1. Висока ціна. 2. Невисока точність проведення аналізів
2. Фірма «Укрхіманаліз»	1. Низька ціна. 2. Хороша репутація у потенційних споживачів.	1. Невисока точність результатів аналізів. 2. Нездатність виконувати всі замовлення вчасно.
Постачальники		
1. ПП «Система Оптимум»	1. Доступність цін. 2. Якість продукції. 3. Великий асортимент товару.	1. Повільна обробка замовлення та тривалий час доставки.
2. Держаний науково-	1. Низькі ціни.	1. Невеликий

контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів	2. Висока якість.	асортимент.
---	-------------------	-------------

Таблиця 6. 5 – Аналіз зацікавлених сторін

Зацікавлена сторона	Вплив її на реалізацію проекту	Цікавість її до проекту	Загальний коефіцієнт впливу на проект
Суб'єкти внутрішнього середовища			
Виробник			
Менеджери	Приймають ключові рішення, від яких залежить успіх стартап-проекту	Зацікавлені у отриманні прибутку через успішну реалізацію стартап-проекту	9
Працівники	Виконання основної діяльності підприємства	Зацікавлені в отриманні заробітної плати і успішній кар'єрі	8
Постачальники			
Постачальники сировини та обладнання	Забезпечення можливості проведення аналізів – основної діяльності підприємства.	Зацікавлені в отриманні прибутку від продажу сировини та обладнання	7
Споживачі			
Промислові	Забезпечення	Зацікавлені в	8

підприємства, що виробляють косметичну продукцію	діяльності стартап-проекту через оплату послуг, що були їм надані.	отриманні послуг, а саме у визначення ефективності консервантів, що використовуються ними при виробництві косметичної продукції.	
Посередники			
Відсутні			-
Зовнішнє середовище			
Політичні структури			
Профільні міністерства, відомства, комітети тощо	Надання дозволу на діяльність, сертифікатів якості	Зацікавленість у дотриманні підприємством діючого законодавства і стандартів якості, а також у вчасній сплаті податків.	10
Суб'єкти економічного середовища			
Конкуренти	Зменшення прибутку стартап-проекту як результат впливу	Зацікавлені у вивченні інновацій стартап-	9

	клієнтів, зниження цін і надання більш якісних послуг	проекту, з метою їх застосування на власному підприємстві	
Інвестори	Надання стартап-проекту фінансової підтримки для його успішної реалізації	Зацікавлені у отриманні прибутку через успішну реалізацію стартап-проекту	7
Власники географічних об'єктів			
Орендодавець	Забезпечення можливості функціонування проекту через надання приміщення	Зацікавлений у отриманні прибутку за рахунок орендної плати	6
Суб'єкти демографії			
Населення	Забезпечення потреби нашого підприємства у робочій силі	Зацікавлене у отриманні заробітної плати і професійному розвитку	6
Суб'єкти культурного середовища			
Люди	Впливають на вибір	Зацікавлені у	3

	виробниками косметичної продукції консервантів (наприклад, натуральні/синтетичні), а також на маркетингову компанію.	наданні послуг, що не суперечать їхнім культурним цінностям.	
Суб'єкти НТП			
Університети, науково-дослідні інститути, наукова спільнота	Забезпечення стартап-проекту необхідними знаннями та технологіями	Зацікавлені у спільному користуванні інноваційними розробками та матеріало-технічною базою.	3

Таблиця 6.6 – Переваги і недоліки внутрішнього середовища

	Переваги	Недоліки
Структура	<ol style="list-style-type: none"> 1. Лінійна структура управління. 2. Чіткі зв'язки між підрозділами. 3. Оперативність у прийнятті рішень. 4. Узгодження дій між працівниками. 	1. Відсутність спеціалістів з окремих функцій виробництва.
Дослідження та розвиток	1. Високий дослідницький потенціал.	1. Для проведення досліджень потрібно багато людських і

	<p>2. Висока інтенсивність та ефективність досліджень.</p> <p>3. Можливість самореалізації для працівників.</p>	<p>фінансових ресурсів, які не завжди наявні у компанії.</p> <p>2. Зроблені відкриття не завжди знаходять практичне застосування.</p>
Персонал	<p>1. Високий рівень кваліфікації працівників.</p> <p>2. Використання фінансових стимулів для заохочення персоналу.</p>	<p>1. Високий рівень плинності кадрів.</p> <p>2. Високі вимоги до рівня кваліфікації персоналу, і внаслідок його нестача.</p>
Фінанси	<p>1. Високий обсяг інвестицій у процес виробництва.</p> <p>2. Можливість отримання кредиту.</p>	<p>1. Невисокий рівень чистого прибутку.</p>
Маркетинг	<p>1. Висока якість послуг, що надаються компанією.</p> <p>2. Добра репутація у клієнтів.</p> <p>3. Наявність ефективної реклами.</p>	<p>1. Неналагоджена система залучення нових клієнтів.</p>
Виробництво	<p>1. Наявність сучасного обладнання.</p> <p>2. Відсутність шкідливих відходів. Всі виробничі процеси</p>	<p>1. Слабка ремонтна база.</p>

	безпечні для навколишнього середовища. 3. Доступність джерел сировини.	
--	--	--

Таблиця 6.7 – Ключові фактори успіху проекту за методом Шонфільда

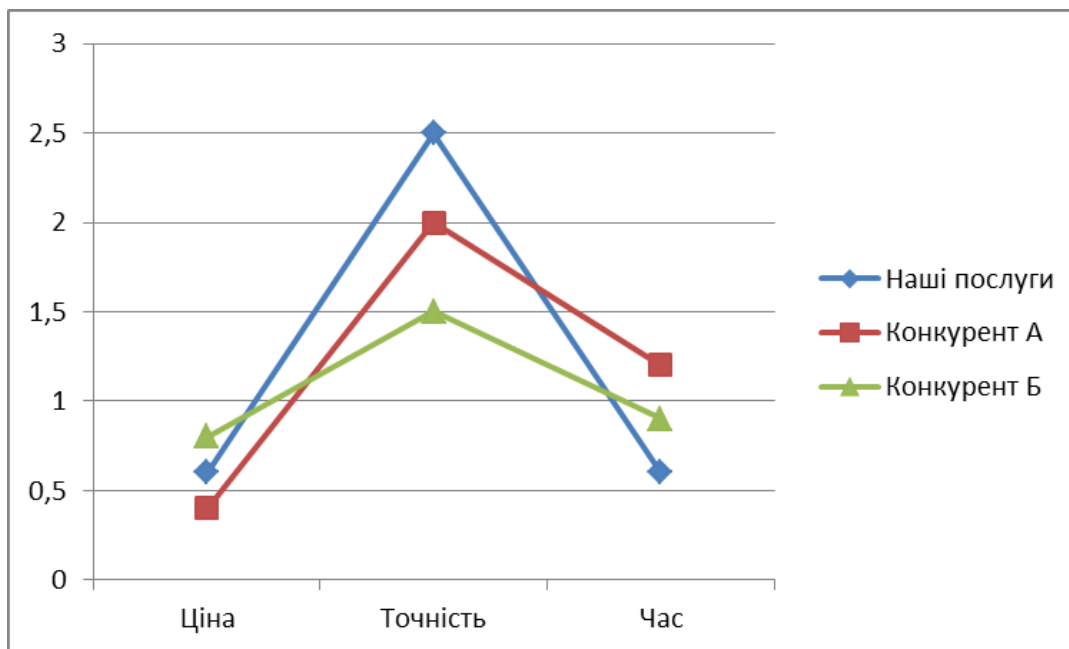
Характеристика	Коефіцієнт вагомості характеристики	Оцінка характеристик		
		Наші послуги	Конкурент А	Конкурент Б
Ціна	0,2	3	2	4
Точність визначення ефективності консерванту	0,5	5	4	3
Здатність завершувати замовлення вчасно	0,3	2	4	3

Бальна оцінка кожної характеристики для наших послуг і для конкурентів:

Характеристика	Бальна оцінка характеристик		
	Наші послуги	Конкурент А	Конкурент Б
Ціна	$0,2 \cdot 3 = 0,6$	$0,2 \cdot 2 = 0,4$	$0,2 \cdot 4 = 0,8$
Точність визначення ефективності консерванту	$0,5 \cdot 5 = 2,5$	$0,5 \cdot 4 = 2$	$0,5 \cdot 3 = 1,5$

Здатність завершувати замовлення вчасно	$0,3*2=0,6$	$0,3*4=1,2$	$0,3*3=0,9$
---	-------------	-------------	-------------

Рис. 6.1 – Порівняння конкурентних переваг підприємства з конкурентами



Висновок. Відповідно до отриманих результатів фактором переваги нашого підприємства є точність визначення ефективності консерванту. За показником «здатність завершувати замовлення вчасно» наше підприємство не може конкурувати. За показником «ціна» у нашого підприємства є тільки один конкурент Б.

Таким чином, наше підприємство повинно зосередитися на наданні якісних точних результатів аналізів для клієнтів. І, при можливості, покращити цінові показники.

3. Потенційні споживачі

Потенційними споживачами є підприємства, що виробляють косметичну продукцію. Моделлю інноваційної діяльності є В2В, тобто фізичні особи не є потенційними клієнтами підприємства, оскільки у них не виникають потреби, що може задовільнити стартап-проект.

Бізнес модель стартап-проекту:

- 1 етап: створення ідеї;
- 2 етап: оренда приміщення, закупівля обладнання та сировини;
- 3 етап: розробка методів аналізу;
- 4 етап: проходження сертифікації та отримання відповідних документів;
- 5 етап: реклама майбутнього підприємства;
- 6 етап: прийняття та обробка перших замовлень;
- 7 етап: вихід на ринок;
- 8 етап: аналіз та обговорення результатів попередніх етапів. Налагодження робочого процесу.

Механізм роботи із клієнтами: Клієнту потрібно подзвонити за телефоном вказаним на нашому сайті або у рекламних постах у соціальній мережі (або написати емейл). Далі з менеджером йому потрібно обговорити об'єми роботи, термін виконання роботи і надати зразки консервантів, що повинні бути проаналізовані. Потім – провести оплату. Звіт про результати аналізів буде надіслано на електронну пошту клієнта згідно зазначеного терміну.

Таблиця 6.8 – Класифікація потенційних споживачів

1. Юридична особа	
Критерій	Значення
1. Форма власності (державне, приватне, колективне, комунальне, змішане,...)	Приватні
2. КВЕД	20.42 – Виробництво парфумних і

	косметичних засобів
3. За потужністю (малі, середні, великі)	середні
4. За масштабом виробництва (одиночні, серійні, масові)	серійні
5. За рівнем спеціалізації (вузькопрофільні, багатoproфільні, комбіновані)	вузькопрофільні
6. За ресурсами, що споживаються (працемісткі, матеріаломісткі, капіталомісткі, інформація)	матеріаломісткі
7. За чисельністю персоналу (малі, середні, великі)	середні
8. За сферою діяльності (виробничі, комерційні, фінансові, посередницькі, страхові...)	виробничі
9. За приналежністю капіталу і контролю (національні, іноземні, спільні багатонаціональні,...)	національні
10. За географічним розташуванням	Україна
11. За віддаленістю органів управління (національні, міжнародні, офшорні, транснаціональні,...)	національні
12. За характером господарської діяльності (промислові, сільськогосподарські, транспортні, будівельні, фінансово-кредитні, страхові,	промислові

туристичні, консалтингові,...),	
13. За рівнем технологічної цілісності (провідні, дочірні, філії,...)	провідні
14. За долею іноземного капіталу (з іноземними інвестиціями (більше 10%), іноземне підприємство (100%)).	з іноземними інвестиціями
15. За формуванням статутного капіталу (унітарні, корпоративні)	унітарні
16. За організацією виробничих процесів (періодичні, безперервні)	безперервні
17. За роботою протягом року (сезонні, позасезонні)	позасезонні
18. За географічним розташуванням на території України	м. Київ
19. За наявністю вільних ОБЗ (коштів)	Виробниче, діюче
20. За динамікою розвитку регіону розташування юридичної особи: <ul style="list-style-type: none"> • Регіон • Чисельність населення • Динаміка росту регіону • Структура регіону • Правові обмеження торгівлі 	Київ 2893094 Коефіцієнт росту 16.3% м. Київ, столиця

Таблиця 6.9 – Клієнт і його потреби

Категорія клієнтів	Потреби, які він задовольняє за допомогою наших послуг
--------------------	--

Виробники косметичних засобів	Потреба у виборі ефективних консервантах для забезпечення високої якості продукції, що виготовляється.
Виробники побутової хімії	Потреба у виборі ефективних консервантах для забезпечення високої якості продукції, що виготовляється.
Дослідницькі інститути	Потреба у розробці швидких і точних методів визначення ефективності консервантів, що застосовуються у промисловості.

4. Оцінка ринкових позицій інноваційної розробки

Таблиця 6.10 – Карта бізнес проектів виконання стартап-проекту

Стадія реалізації стартап проекту	Бізнес-процеси	Характеристики		
		Задіяні ресурси	Орієнтовна тривалість процесу	Верхня межа фінансових витрат, грн
Розробка ідеї стартапу	Розробка методів аналізу	2 ос, комп'ютер, лабораторне устаткування	30 днів	2 000
	Розробка нормативної документації	2 ос, комп'ютер	8 днів	1 000
	Вибір і розробка маркетингової	1 ос, комп'ютер	14 днів	2 000

	стратегії			
Реалізація ідеї	Закупівля сировини	1 ос, комп'ютер	14 днів	4 000
	Закупівля обладнання	1 ос, комп'ютер	14 днів	50 000
	Оренда приміщення	1 ос, комп'ютер	14 днів	300 000
	Запуск маркетингової кампанії	1 ос, комп'ютер	7 днів	20 000
Впровадження у виробництво	Включення обладнання	2 ос, комп'ютер, виробниче обладнання	0,5 дня	2 500
	Проведення тестування	2 ос, виробниче обладнання	3 дня	2 000
Масова реалізація	Прийняття замовлень від клієнтів	1 ос, комп'ютер	0,5 дня	-
	Проведення аналізу	2 ос, виробниче обладнання	3 дня	617,45*
	Надсилання звіту клієнтам	1 ос, комп'ютер	0,5 дня	-
Закриття або продаж проекту	Продаж обладнання	2 ос, комп'ютер	14 днів	1 000

* - вартість проведення 1-го аналізу розрахована нище.

Таблиця 6.11 – Системний аналіз бізнес-процесів стартап-проекту

Функції	Елементи				
	Розробник	Лаборант	Маркетолог	Постачальники	Орендодавець
Розробка ідеї стартап-проекту	+	+	+		
Реалізація ідеї	+		+	+	+
Впровадження у виробництво	+	+			
Масова реалізація	+	+			
Закриття або продаж проекту	+				

5. Аналіз джерел та моделей фінансування проекту

На початкових етапах розвитку стартап-проекту джерелом його фінансування є особисті заощадження. Така модель фінансування обрана через те, що на цьому етапі ще нічого запропонувати стороннім інвесторам. У подальшому, джерелом фінансування проекту буде бізнес-інкубатор, такий як iHub. Бізнес-інкубатор забезпечить нас якісною інфраструктурою, необхідними навичками та консультацією, а також допомогою у залученні інвесторів.

6. Розрахунок вартості стартап-проекту

Кількість послуг, що надається за 1 рік – 540.

Приміщення – 300 000 грн

Обладнання – 50 000 грн

Таблиця 6.12 – Вартість обладнання

Обладнання (од.)	Вартість (грн)	Норма амортизації	Амортизація (грн)
Лабораторний посуд (100)	5 000	5	1 000
Фотоелектроколориметр (1)	20 000	20	1 000
Автоклав (1)	5 000	20	250
Сушильна шафа (1)	10 000	20	500
Термостат (1)	10 000	20	500
	Σ= 50 000		Σ=3250

Таблиця 6.13 – Вартість сировини

Назва	Кількість (необхідна для проведення 540 аналізів)	Вартість, грн
Поживне середовище	3 кг	3 000
Штами тест-культур	1 од. кожного виду	1 000
		Σ = 4 000

Вартість сировини на 1 аналіз – 7,4 грн.

Витрати на електроенергію:

$$V_{\text{ел}} = 250 \cdot 8 \cdot 10,2 \cdot 2,54567 = 51\,931,668 \frac{\text{грн}}{\text{рік}},$$

де 10,2 – кількість кВт за 1 годину, 2,54567 грн/кВт·год – тариф на електроенергію.

Витрати на заробітну плату $19\,520 \cdot 12 + 10\,000$ (преміальні) = 244 240 грн. (табл. 6.14). На підприємстві працюватиме 3 людини – я (засновник проекту, не отримуватиму заробітну плату, тільки дохід від діяльності підприємства), лаборант та прибиральник. Підприємство працюватиме за 5-денним робочим графіком. Робочий день складає 8 год.

Зарплата працівників є фіксованою і не залежить від кількості замовлень (проведених аналізів).

Таблиця 6.14 – Витрати за заробітну плату

Посада	Заробітна плата на місяць (грн)	Заробітна плата з урахуванням єдиного соціального внеску (грн)
Лаборант	10 000	12 200
Прибиральник	6 000	7 320
		$\Sigma = 19\ 520$

До основних фондів даного підприємства належать:

- 1) Приміщення;
- 2) Обладнання;

$$C=A+Обз;$$

Амортизація:

$$A_{обл}=3250 \text{ грн};$$

$$A_{прим} = \frac{\Phi_{пп}}{T_{експ}} = \frac{3000000}{20} = 30000 \text{ грн};$$

$$A = 3\ 250 + 30\ 000 = 33\ 250 \text{ грн/рік.}$$

Таблиця 6.15 – Собівартість послуг

1) Сировина	4 000 грн./рік
2) Заробітна плата	244 240 грн./рік
3) Амортизація	33 250 грн./рік
4) Електроенергія	51 931,668 грн./рік
Собівартість/рік (грн)	333 421,668 грн./рік

Розмір капіталовкладень для масової реалізації:

$$K=OF+Обз=350\ 000+300\ 171,668=650\ 171,668 \text{ грн/рік.}$$

$$OF=Приміщення + Обладнання = 300\ 000+50\ 000 = 350\ 000 \text{ грн/рік.}$$

Обз = Сировина + Витрати на заробітну плату + Витрати на електроенергію =
 $4\,000 + 244\,240 + 51\,931,668 = 300\,171,668$ грн/рік.

Загальний розмір капіталовкладень для запуску стартап-проекту (виходячи з Табл. 10):

$$K = 2\,000 + 1\,000 + 2\,000 + 4\,000 + 20\,000 + 2\,500 + 2\,000 + 1\,000 + 650\,171,668 = 684\,671,668 \text{ грн}$$

Собівартість одного аналізу:

$$C = \frac{C_{рв}}{B} = \frac{333421,668}{540} = 617,45 \text{ грн.}$$

Встановимо ціну на 1 аналіз 800 грн.

Визначимо рентабельність підприємства:

$$P = (C - C) / C = (800 - 617,45) / 617,45 \cdot 100\% = 29,57\%$$

Прибуток підприємства за рік:

$$П = (C - C) \cdot B = (800 - 617,45) \cdot 540 = 98\,577 \text{ грн.}$$

Період повернення капіталовкладень:

$$T = K / П = 684\,671,668 / 98\,577 = 6,94 \text{ років.}$$

7. Розрахунок ціни інноваційної пропозиції на ринку

1. За витратним методом:

$$Ц = C + П = 617,45 + 276,98 = 864,43 \text{ грн,}$$

де Ц – ціна проведення одного аналізу, грн;

С – собівартість проведення одного аналізу (розрахована вище), грн;

П – величина прибутку (40 %), яку бажає отримати підприємство від надання одиничної послуги, грн.

2. Агрегатний метод застосовують при визначенні ціни на продукцію, яка складається з окремих елементів, ціна на які уже відома. Цей метод неможливо застосувати для визначення ціни послуг, які надає наше підприємство.

3. За параметричним методом:

Бальна оцінка була розрахована раніше (табл. 7) за методом Шонфільда.

$$Ц_1 = Ц_2 \cdot (Б_1/Б_2) = 900 \cdot (3,7/3,2) = 1040,625 \text{ грн,}$$

де $Ц_1$ – ціна на проведення 1-го аналізу нашою компанією;

$Ц_2$ – ціна на проведення 1-го аналізу конкурентом Б;

$Б_1$ – балова оцінка нашого підприємства;

$Б_2$ – балова оцінка конкурента Б.

4. За конкурентним методом:

З Інтернет-джерел дізнаємось, що конкурент А (фірма «Отава») встановив ціну на аналогічну послугу, що дорівнює 1200 грн., а конкурент Б (компанія «Укрхіманаліз») – 900 грн. Таким чином, для приваблення клієнтів, а також повернення капіталовкладень, встановлюємо ціну для наших послуг 1 000 грн.

5. За методом точки беззбитковості:

Ціна, при якій досягається точка беззбитковості:

$$П = Ц - С;$$

$$Ц = С, \text{ тоді } П = 0.$$

Згідно Табл. 1, запланований обсяг робіт у першому році після запуску стартап-проекту – 540 аналізів. Форма оплати праці – фіксована і не залежить від кількості проведених аналізів. Затрати сировини мінімальні (тільки в аналітичних кількостях).

$$Ц_{од} \cdot В - (А + Обз) = 0$$

$$Ц_{од} = (33\,250 + 300\,171,668) / 540 = 617,45 \text{ грн}$$

Таким чином, для забезпечення конкурентоспроможності нашого підприємства на ринку, а також для отримання прибутку доцільно встановити ціну 1 000 грн на один аналіз.

8. Оцінка ризиків та страхування розробки

Таблиця 6.16 – Ризики інноваційної розробки та ймовірність їх настання

Види ризиків	Ймовірність їх настання	Вплив на очікуваний результат
Зовнішні ризики		
1. Вхід нових	Помірна	Неможливість

конкуrentів на ринок		досягнення очікуваного рівня прибутку, як наслідок падіння цін і нестачі клієнтів.
2. Бюрократичні процедури, необхідні для запуску стартап-проекту	Висока	Неможливість запуску стартап-проекту в заплановані терміни.
3. Кредитний ризик	Помірна	Значні збитки та ймовірність банкрутства.
4. Збільшення податків.	Помірна	Неможливість досягнення очікуваного рівня прибутку, підприємство може стати збитковим.
5. Інфляція	Висока	Знецінення грошових активів і доходів підприємства, зниження конкурентоспроможності.
Внутрішні ризики		
1. Некомпетентність вищого керівництва у специфічних питаннях, пов'язаних з науковими проблемами.	Помірна	Неефективність робочого процесу, зниження якості виконання робіт, втрата клієнтів, зниження прибутків.
2. Відсутність фінансових ресурсів для інноваційної діяльності.	Висока	Неможливість конкурувати за показниками ціни, якості та швидкості виконання

		робіт. Як наслідок, втрата клієнтів і зниження прибутків.
3. Нестача кадрів.	Помірна	Неможливість виконувати роботи якісно та в встановлений термін. Як наслідок, втрата клієнтів і зниження прибутків.
4. Відсутність нових клієнтів.	Дуже висока	Відсутність прибутків, банкрутство.
5. Поломка обладнання	Низька	Неможливість виконувати роботи якісно та в встановлений термін. Як наслідок, втрата клієнтів і зниження прибутків

Таблиця 6.17 - Методи управління ризиками

Ризик	Методи управління ризику	Приклад методу
Ризик відсутності нових клієнтів та ризику, пов'язані зі входом на ринок нових конкурентів	Попередження (скорочення) ризику	Активний цілеспрямований маркетинг.
Кредитний ризик та ризик відсутності коштів для інноваційної	Прийняття ризику	Створення резервів у грошовій формі (фонду ризику).

діяльності		
Інфляція та збільшення податків	Попередження (скорочення) ризику	Прогнозування зовнішньої економічної ситуації та моніторинг соціально-економічного та правового середовищ.
Несправність обладнання	Передача ризику	Закупівля обладнання та сировини тільки у надійних постачальників з гарантією якості.

Висновок. Таким чином, успіх стартап-проекту зумовлений багатьма чинниками, основні з яких це успішність маркетингової кампанії, надійність постачальників, висока якість послуг та хороша репутація у клієнтів, а також сприятлива політична та економічна ситуації в країні.

РОЗДІЛ VII

ВИСНОВКИ

1. При розробці рецептур сучасних консервуючих сумішей враховують безпечність компонентів та синергетичний ефект. Найбільш популярними консервантами є метилпрабен, пропілпарабен, феноксиетанол, метилхлорізотіазолінон та метилізотіазолінон.

2. На застосування консерванту в певному косметичному засобі впливають такі фактори: розчинність консерванту, спектр його антибактеріальної дії, органолептичні якості, безпечність для людини та навколишнього середовища. Також враховують змивається чи не змивається косметичний засіб, тобто тривалість взаємодії консерванту зі шкірою.

3. Була розроблена власна методика оцінки ефективності консервуючих сумішей щодо бактерій групи кишкової палички як приклад грамнегативних бактерій. Методика базується на модифікації методу оцінки антибіотиків. Вона передбачає метод серійних розведень, при чому серію розчинів консервантів готували відповідно до рекомендацій виробника. Методика також передбачає контрольний висів на елективне середовище.

4. Було досліджено 7 консервуючих сумішей, їх можна поділити на такі групи: 1. парабенівмісні (Phenochem NIB, Sharomix DMP, Sharomix 300); 2. що не містять парабенів (Sharomix MCI BA, Sharomix MCI II, Sharomix EG10, Sharomix 702); 3. що містять формальдегід (Sharomix DMP); 4. що містять галогеновмісні сполуки (Sharomix MCI BA, Sharomix MCI II). Діючі концентрації знаходяться в межах 1 000 – 11 000 ppm. Найефективнішими виявились консервуючі суміші Sharomix 300 та Sharomix MCI II, їх діюча концентрація становить 1 000 ppm.

5. Розроблено стартап-проект, який передбачає створення лабораторії з визначення діючих концентрацій консервантів. Основною потребою, яку задовільнить такий проект, є потреба промислових виробників (фабрики, що випускають косметичну продукцію) у виборі ефективних консервантів для забезпечення високої якості продукції. Рентабельність стартап-проекту

становить 29,57%, а період повернення капітоловкладень – 6,94 роки. При успішному впроваджені стартап-проекту планується його розширення до широкомасштабної мікробіологічної і хімічної лабораторії.

6. Звіт про одержані результати був надісланий до підприємства КФФ «Трейд», замовника роботи.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Herman A. Antimicrobial ingredients as preservative booster and components of self-preserving cosmetic products. *Current Microbiology*. 2018. P. 19-26.
2. Leschke M, Siegert-Schülke W, Mayr G.P. Boosting efficacy of preservatives. *Personal Care*. 2008. P. 1-4.
3. Leschke M. A. Multifunctional ingredient for leave-on cosmetics. *Cosmet Sci Technol*. 2006. P. 189-195.
4. Leschke M., Wustermann S. A reliable alternative for traditional preservative systems. *SÖFW J*. 2006. Vol. 132. P. 78
5. Lawan K., Kanlayavattanakul M., Lourith N. Antimicrobial efficacy of caprylyl glycol and ethylhexylglycerine in emulsion. *J Health Res*. 2009. Vol. 23. P. 1-3.
6. Leschke M. Ethylhexylglycerin for a improved skin feel. *SÖFW J*. 2010. Vol. 136, P. 10.
7. Langsrud S., Steinhauer K., Lüthje S., Weber K., Goroncy -Bermes P., Holck A.L. Ethylhexylglycerin impairs membrane integrity and enhances the lethal effect of phenoxyethanol. *PLoS ONE*. 2016. Vol. 11. P. e0165228.
8. Kerdudo A., Fontaine-Vive F., Dingas A., Faure C., Fernandez X. Optimization of cosmetic preservation: water activity reduction. *Int J Cosmet Sci*. 2015. Vol. 7. P. 31–40.
9. Halla N., Fernandes I.P., Heleno S.A., Costa P., Boucherit-Otmani Z., Boucherit K., Rodrigues A. E., Ferreira I. C., Barreiro M. F. Cosmetics preservation: a review on present strategies. *Molecules*. 2018. Vol. 23. P. E1571.
10. Kerdudo A., Fontaine-Vive F., Dingas A., Faure C., Fernandez X. Optimization of cosmetic preservation: water activity reduction. *Int J Cosmet Sci*. 2015. Vol. 37, no. 1. P. 31-40.
11. De Spiegeleer B., Wattyn E., Slegers G., Van Der Meeren P., Vlaminck K., Van Vooren L. The importance of the cosolvent propylene glycol on the

antimicrobial preservative efficacy of a pharmaceutical formulation by DOE-ruggedness testing. *Pharmaceut Dev Technol.* 2006. Vol. 11. P. 275–284.

12. Kinnunen T, Koskela M. Antibacterial and antifungal properties of propylene glycol, hexylene glycol, and 1, 3-butylene glycol in vitro. *Acta Dermato-Venereol.* 2017. Vol. 71. P. 148–150.

13. Janichen J. The quest for the ideal preserving system reducing traditional preservatives in combination with Dermosoft Octiol. *Eur Cosmet.* 2004. Vol. 7/8. P. 10–16.

14. Fang B., Yu M., Zhang W., Wang F. A new alternative to cosmetics preservation and the effect of the particle size of the emulsion droplets on preservation efficacy. *Int J Cosmet Sci.* 2016. Vol. 38. P. 496–503.

15. Davidson, P. M., Taylor, T. M., Schmidt, S. E. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds in food microbiology . *American Society of Microbiology.* 2013. P. 765–801.

16. Lambert, R. J., Stratford, M. Weak-acid preservatives: modelling microbial inhibition and response. *Journal of Applied Microbiology.* 1999. Vol. 86, no. 1. P. 157–164.

17. Macris, B. Mechanism of benzoic acid uptake by *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology.* 1975. Vol. 30, no. 4. P.503–506.

18. El-Shenawy, M. A., Marth, E. H. Sodium benzoate inhibits growth of or inactivates *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection.* 1988. Vol. 51, no. 7. P.525–530.

19. Yousef, A. E., El-Shenawy, M. A., Marth, E. H. Inactivation and injury of *Listeria monocytogenes* in a minimal medium as affected by benzoic acid and incubation temperature. *Journal of Food Science.* 1989. Vol. 54, no. 3. P.650–652.

20. Hollingsworth, C. A., Seybold, P. G., Hadad, C. M. Substituent effects on the electronic structure and pKa of benzoic acid. *International Journal of Quantum Chemistry.* 2002. Vol. 90, no. 4–5. P. 1396–1403.

21. Garner N., Siol A., Eilks I. Parabens as preservatives in personal care products. *Chemistry in Action!* 2014. Vol. 103. P. 38-43.
22. Плетнёв М. Ю. Консерванты и современные способы защиты продукции: [учебно-справочное руководство]. М: Интеллект, 2013. 422с.
23. Ливенцова О. О. Парабены: свойства, применение, методы определения. *Харчова наука і технологія*. 2015. Т. 9, № 4. С. 44-49.
24. Soni M. G., Taylor S. L., Greenberg N. A., Burdock G. A. Evaluation of the health aspects of methyl paraben: a review of the published literature. *Food Chem Toxicol*. 2002. Vol. 40, no. 10. P.1335-73.
25. Elder D. P., Crowley P. J. Antimicrobial preservatives part two: choosing a preservative. *American Pharmaceutical Review*. 2012. Vol. 20, no. 6. P. 78-83.
26. Polati, S., Gosetti, F., Gennaro, M.C. Analysis of cosmetic products (Chapter 5). *Preservatives in Cosmetics. Regulatory Aspects and Analytical Methods*. Ed. by Salvador, A., Chisvert, A., Amsterdam: Elsevier, 2004. 548 p.
27. Crovetto S. I., Moreno E., Dib A. L., Espigares M., Espigares E. Bacterial toxicity testing and antibacterial activity of parabens. *Toxicological & Environmental Chemistry*. 2017. P. 113 - 124.
28. Dao H., Lakhani P., Police A., Kallakunta V., Ajjarapu S.S., Wu K.W., Ponkshe P., Repka M. A., Narasimha M. S. Microbial stability of pharmaceutical and cosmetic products. *AAPS PharmSciTech*. 2018. Vol. 19, no. 1. P. 60-78. –
29. Preliminary and short report; in vitro activity of p-hydroxybenzoic acid esters on pathogenic fungi. *Journal of Investigative Dermatology*. 2006. Vol. 26, no. 4. P. 239-242.
30. Product list & Sharomix range.: веб-сайт. URL: www.sharon-labs.com.
31. Lalitha Ch., Prasada Rao P. V. V. Antimicrobial efficacy of low level cosmetic preservatives. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014. Vol. 3, no. 2. P.1685-1696.

32. Güven N., Kaynak Onurdağ F. Investigation of antimicrobial and antibiofilm effects of some preservatives used in drugs, cosmetics and food products. *Mikrobiyol Bul.* 2014. Vol. 48, no. 1. P.94-105.

33. Francisco A., Fonseca A. P. Parabens paradoxes in cosmetic formulations: a review. *International Journal of Medical Research and Pharmaceutical Sciences.* 2016. Vol. 3,no. 8. P. 1-11.

34. Polat S., Gosetti F., Gennaro M.C. Preservatives in cosmetics. Regulatory aspects and analytical methods. *Anal. of Cosmetic products.* 2007. P. 211– 241.

35. Бейлфусс В., Лешке М., Вебер К. Новый подход к повышению пре-зервирующей эффективности феноксиэтанола. *SOFW Journal (русская версия).* 2006. №1. С. 28—33.

36. Klein S., Klug P. Nipaguard PO 5 - high performance preservative blend. *Global Ingredients and Formulation Guide.* 2006. Augsburg: Verlag f. Chem. Industrie H. Ziokowsky GmbH. P. 390—397.

37. Klein S., Klug P. A new generation preservatives for cosmetic formulations Nipaguard PO 5. Nipaguard POB and Nipaguard POM. *Cosmetic Sci. Technol.* 2007. P. 174-178.

38. Burnett, C. L., Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Klaassen, C. D., Marks, J. G., Shank, R. C., Andersen F. A. Final report of the safety assessment of methylisothiazolinone. *International Journal of Toxicology.* 2010. Vol. 29, no. 4. P. 187S-213S.

39. Aerts, O., Lambert, J., Goossens, A. Isothiazolinone derivatives: chemical structure and cross-reactivity patterns. *Revue Française d'Allergologie.* 2017. Vol. 57. P.178–180.

40. Xia, S., Sun, W., Yu, L., Hua, Z. Qsar studies on the antibacterial activity of some substituted 3-Isothiazolinones. *Acta Chim.* 2007. Vol. 65. P.2707–2714.

41. Rezaee, S., Khalaj, A. Adibpour, N. Saffary, M. Correlation between lipophilicity and antimicrobial activity of some 2-(4-substituted phenyl)-3 (2h)-isothiazolones. *DARU J. Pharm. Sci.* 2015. Vol. 82. P.632–639.

42. Rossmore, H. W. Nitrogen compounds. *Disinfection, Sterilization, and Preservation*. Ed. by Block, S.S. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. P. 349–395.

43. European Commission (Ed.) Commission Regulation (EU) 2017/1224 of 6 July 2017 Amending Annex V to Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council on Cosmetic Products. Brussels, Belgium: European Commission, 2017.

44. Lundov M. D., Krongaard T., Menne T. L., Johansen J. D. Methylisothiazolinone contact allergy: a review. *British Journal of Dermatology*. 2011. Vol. 165. P. 1178–1182.

45. Bruce D. M., Croshaw B., Flail J. E. The activity and safety of the antimicrobial agent Bronopol (2-bromo-2 nitropropane 1,3-diol). *J. Soc. Cosmet. Chem.* Vol. 29, no. 1, 2008. P. 3-24.

46. Dunnett P. C., Telling G. M. Study of the fate of bronopol and the effects of antioxidants on TV-nitrosamine formation in shampoos and skin creams. *Int. J. Cosmet. Sci.* 1984. Vol. 6, no. 5. P. 241—247.

47. Steinberg D. C. *Preservatives in cosmetics*. 3rd Edition / ed. by C. Stream, Bloomberg: Allured Publishing, 2012. P. 291.

48. Denyer S. P., Hugo W. B., Harding V. D. Synergy in preservative combinations. *Int J Pharm.* 1985. Vol. 25, no. 3. P. 245-53.

49. Abd El-latif R. S., Elbadawy N. E., El-Hady H. A. Checkboard Antimicrobial susceptibility testing of multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from patients with ventilator associated pneumonia. *Egyptian Journal of Medical Microbiology*. 2012. Vol. 21, no. 4. P. 89-98.

50. Lourenço F. R., Francisco F. L., Ferreira M. R., Andreoli T. J., Löbenberg R., Bou-Chacra N. Design space approach for preservative system

optimization of anti-aging eye fluid emulsion. *J Pharm Pharm Sci*. 2015. Vol. 18, no. 3. P. 551-61.

51. D'Amelio Sr. F.S., Mirhom Y.W., Dreyer A. L. Introducing Suprapein™ an all-natural preservative for multiple personal care applications — creams, soaps, shampoos. *Bio-Botanica Leaflet*. 2007. P. 6.

52. *Euxyl PE 9010 — Preservative for Cosmetics & Toiletries*. Norderstedt, Germany: Schiilke & Mayr GmbH, 2008. P. 6.

53. Siegert W. The benefit of using synergistic mixtures of preservatives. *SOFW Journal*. 2006. Vol. 132, no. 12. P. 48-52.

54. Борщевський Г. І., Раїлко З. О., Рейда В. П. Випробування ефективності антимікробних консервантів препарату «ЕФІАЛЬ». *Annals of Mechnikov Institute*. 2015. № 1. С.44-48.

55. Горлачова В. І., Вишнеvsька Л. І. Дослідження ефективності антимікробних консервантів з метою удосконалення складу лікарського косметичного засобу протизапальної дії. *Український біофармацевтичний журнал*. 2016. Т.1, № 42. С. 16 - 20.

56. Чуб Е. В., Стрилец О. П., Мартынюк Т. В. Микробиологические исследования по выбору консерванта и его концентрации при создании депигментирующего тоника. *Запорожский медицинский журнал*. 2008. Т. 1, № 46. С. 146-148.

57. Беликов О. Е. Микробиологическое заражение косметической продукции и использование консервантов как способ его предотвращения. М.: Косметика и медицина: научный альманах. 2000. 420 с.

58. Зигерт В. Контроль за микробиологическим качеством парфюмерно-косметических средств. М.: Косметика и медицина: научный альманах. 2001, 382 с.

59. *Державна фармакопея України*. М.: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2011. 536 с.

60. Жук, О. В., Баранова, І. І., Стрілець, О. П. Обґрунтування вибору консерванту у розробленому піномийному засобі для дітей. *Ukrainian Biopharmaceutical Journal*. 2015. Т.1, №. 36. С. 9 - 12.

61. Гудзенко О. П., Немятих О.Д., Кулдиркаєва К.В. Дослідження активності антимікробних консервантів в дитячому сиропі на основі соку смородини чорної та етамзилату. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2013. Т. 8, № 1. С. 244-247.

62. Струс О. Є., Стрілець О. П., Половко Н. П. Дослідження антимікробної активності мила з сапропелем. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології : збірник наукових праць*. М: НФаУ, 2017. 244 с.

63. Коваленко С.М., Осолодченко Т.П. Обґрунтування вибору консерванта при розробці гелю для лікування діабетичних виразок. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2012. Т. 7, № 2. С. 53-55.

64. Jorgensen J. H., Ferraro M. J. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clin Infect Dis*. 2009. Vol. 49, no. 11. P. 1749-55.

65. Lalitha, P. V. V., Prasada R. Antimicrobial efficacy of low level cosmetic preservatives. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2013. Vol. 3, no. 2. P. 1685-1696.

66. Stanojevic D., Comic L., Stefanovic O., Solujic-Sukdolac S. Antimicrobial effects of sodium benzoate, sodium nitrite and potassium sorbate and their synergistic action in vitro. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2009. Vol. 15, no. 4. P. 307-311.

ДОДАТКИ

Додаток А – Паспорт тест-штаму *Escherichia coli*

Код ЗКПО 05417087, МФО 820172
 Код ЗКПО 05417087, МФО 820172

« _____ » 20 р.

Українська Колекція Мікроорганізмів

ПАСПОРТ ТЕСТ-ШТАМУ

Назва тест-штаму ***Escherichia coli***

Номер тест-штаму в колекції УКМ та інших колекцій УКМ В-906
 (АТСС 25922 (F-50) = ГИСК 240533 = ССМ 3954 = NCIMB 12210)

Одержано з ГИСК им.Тарасевича, Москва, Росія

Коротка характеристика тест-штаму
 (морфологічних, біохімічних та культуральних властивостей)
 Грамнегативні прямі палички, рухомі за допомогою перитрихіальних джгутиків, поодинокі або в парах. Не утворюють спор. Факультативні анаероби. Оксидазонегативні. Проба з метил-рот позитивна, реакція Фогес-Проскауера негативна. Не засвоюють цитрат та малонат, не виявляють аргініндігідролази. Утворюють кислоту з газом на глюкозі, лактозі, мальтозі, манніті.


Призначення тест-штаму
 Референс-штам для контролю ростових властивостей живильних середовищ і перевірки придатності методики, контролю точності визначення чутливості до антибіотиків методом дифузії в агар та контролю ефективності антимікробних консервантів.

Умови підтримання м'ясо-пептонний агар, 37° С

Умови зберігання тест-штаму в ліофілізованому стані при температурі холодильника; на 0,5%-ному м'ясо-пептонному агарі під шаром вазелінового масла при кімнатній температурі

Директор Інституту академік НАН України
 Керівник (куратор колекції) к.б.н.

В.С. Підгорський
 О.І. Балко



Додаток Б – Рекомендації щодо застосування консервантів, надані виробником



КОНСЕРВАНТЫ И ИННОВАЦИОННЫЕ СМЕСИ. ИДЕАЛЬНАЯ ЗАЩИТА ВАШИХ ПРОДУКТОВ.

НАЛИЧИЕ НА СКЛАДЕ

ПРИМЕНЕНИЕ

		Шаромикс МСІ ВА	Sharomix МСІ ІІ	Phenochem NIB	Sharomix DMP	Sharomix 300	Метил парабен	Пропил парабен	Sharomix EG 10	Sharomix 702
		Methylchloroisothiazolinone, Methylisothiazolinone, Benzyl Alcohol	Methylchloroisothiazolinone, Methylisobiazolinone	Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben, Phenoxyethanol	Methylparaben, Propylparaben, Diazolidinyl Urea, Propylene Glycol	Methylparaben, Propylparaben, Bronopol, Phenoxyethanol	Methylparaben	Propylparaben	Ethylhexylglycerin, Phenoxyethanol	Benzoic Acid, Dehydroacetic Acid, Phenoxyethanol
без формальдегида										
без парабена										
безгалогеновый										
смываемые продукты	шампунь	+++	+++	+	+++	+++	++	+	+	++
	жидкое мыло	+++	+++	+	+++	+++	++	+	+	++
	гель для душа	+++	+++	+	+++	+++	++	+	+	++
	кондиционер	+++	+++	++	+++	+++	++	++	+	+++
оставляемые на коже продукты	маска для лица	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+++
	лосьон для тела	-	-	+++	+++	+	++	++	++	+++
	крем для рук	-	-	+++	+++	+	++	++	++	+++
	увлажняющее средство	-	-	+++	+++	+	++	++	++	+++
	крем от старения кожи	-	-	+++	+++	+	++	++	++	+++
	маска для лица	-	-	+++	+++	+	++	++	++	+++
	солнцезащитный крем	-	-	+++	+++	+	++	++	++	+++
	крем для глаз	-	-	+++	+++	+	++	++	++	+++
	гель для укладки волос	-	-	++	+	+++	++	++	++	+++
	средство для снятия макияжа	-	-	++	+++	+	++	++	++	+++
декоративная косметика	тонизирующий лосьон	-	-	+++	+++	+	++	++	++	+++
	тушь для ресниц	-	-	+++	+	-	+++	+++	+	-
	карандаш для век	-	-	+	+	-	+++	++	+	-
	губная помада	-	-	+	+	-	+	+++	+	-
	тени для век	-	-	-	-	-	+++	+++	-	-
влажные салфетки	очищающие средства для детей	-	-	+++	++	++	++	++	++	+++
	средство для снятия макияжа	-	-	++	+++	++	++	++	++	+++
	зубная паста	-	-	-	-	-	+++	+++	+	-
	жидкость для полоскания рта	-	-	-	-	-	++	++	+	-
+++ Настоятельно рекомендуется		++	Рекомендуется		+	Подходит	-	Не рекомендуется		

Додаток В – Інформація про склад консервантів, надана виробником

1 Шаромікс MCI BA	INCI: Methylchloroisothiazolinone, Methylisothiazolinone, Benzyl Alcohol	Обладает отличными антисептическими характеристиками, проявляя свою эффективность в отношении дрожжевых грибков, грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также плесневых грибков. Многофункциональный консервант полностью совместим с водой, спиртами и гликолем, эффективен при наличии в составе рецептуры катионных, анионных, неионогенных сурфактантов. Стабилен до 50 С. Эффективен при pH 2-8. Ввод: 0,03 - 0,1 %.	Не содержит формальдегида, парабенов, феноксиэтанола
2 Sharomix MCI	INCI: Methylchloroisothiazolinone, Methylisothiazolinone	Выступая в роли биоцида, Sharomix MCI очень эффективен для широкого ассортимента продуктов с водорастворимым составом, включая шампуни, кондиционеры, жидкое мыло, пены для ванн и гели для душа. Стабилен до 50 С. Эффективен при pH 2-8. Ввод: 0,03 - 0,1 %.	Не содержит формальдегида, парабенов, феноксиэтанола
3 Phenochem NIB	INCI: Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben, Phenoxyethanol	Является высокоэффективным антимикробным средством широкой области действия, с низким токсическим профилем, не вызывает раздражения кожи, глаз или слизистых оболочек, при использовании в рекомендуемых концентрациях. Применение - смываемые и несмываемые косметические и гигиенические изделия. Стабилен до 85 С. Эффективен при pH 3-8. Ввод: 0,25-0,8%.	Не содержит галогенов, формальдегида
4 Sharomix DMP	INCI: Diazolidinyl Urea, Methylparaben, Propylparaben, Propylene Glycol	Применение - водорастворимые составы, эмульсии с содержанием масляной фазы выше 25%, шампуни, кондиционеры, кремы, лосьоны. Эффективен против грамположительных и грамотрицательных бактерий, дрожжевых и плесневых грибков, стабилен до 60 С. Эффективен при pH 3-9. Ввод: 0,3 - 1%.	Не содержит галогенов

5 Sharomix 300	INCI: Methylparaben, Propylparaben, Bronopol, Phenoxyethanol	Смесь Парабенов с Бронополом в Феноксиэтаноле создает сильную консервирующую систему с защитой от всех типов микроорганизмов. Идеальный консервант для влажных салфеток, а также любых несмываемых и смываемых средств Широкий спектр активности. Эффективен при pH 4,5 - 8,5. Ввод: 0,3 - 0,7%.	Не содержит галогенов
----------------	--	--	-----------------------

Инновационные консервирующие смеси

Созданные на заказ инновационные решения для надежной защиты косметической продукции - это ответ специалистов компании Шарон на запросы рынка и потребителей. Данные смеси обеспечивают безопасную защиту Ваших продуктов, сохраняя их качество.

8 Sharomix EG 10	INCI: Ethylhexylglycerin, Phenoxyethanol	Широкий диапазон pH. Рекомендуемый ввод: до 1.1%. Для смываемых и несмываемых средств.	Не содержит галогенов, формальдегида, парабенов
------------------	--	--	---

Многоцелевые смеси широкого спектра действия

Мягкие и зеленые консерванты обеспечивают защиту широкого спектра действия. Не содержат парабенов, МПТ/СМПТ, галогенов и формальдегида.

9 Sharomix 702	INCI name: Phenoxyethanol, Benzoic Acid, Dehydroacetic Acid	Применение - для смываемых и несмываемых продуктов. Эффективен против бактерий, дрожжей и плесени, широкого спектра действия. Эффективен при pH 2 - 5,5. Ввод: 0,5 - 1,35%.	Не содержит галогенов, формальдегида, парабенов
----------------	---	---	---

Додаток Г – Специфікація консерванту Sharomix 300

Спецификация продукта

Название продукта:	SHAROMIX 300
Химическое название:	Метилпарабен, пропилпарабен и Бронопол в феноксиэтаноле
Описание :	Вязкий раствор слегка желтоватый

<u>Тест</u>	<u>Единица</u>	<u>Спецификация</u>
Прозрачность и Цвет раствора		Прошел тест
FNU		0.00 - 3.00
Кислотность(ml NaOH 0.1M)		0.00 - 0.50
2-Феноксиэтанол	%(w/w)	73.0 - 77.0
Бронопол	%(w/w)	4.5 - 5.5
Метилпарабен	%(w/w)	13.5 - 16.5
Пропилпарабен	%(w/w)	4.5 - 5.5

Додаток Д – Специфікація консерванту Sharomix EG10*Спецификация продукта*

Название продукта: SHAROMIX EG10
Химическое название: 2-феноксизтанол и Этилгексилглицерин
Описание : Прозрачная, бесцветная - почти бесцветная жидкость с характерным запахом

<u>Тест</u>	<u>Единица</u>	<u>Спецификация</u>
Прозрачность и Цвет раствора		Прошел тест
Показатель преломления (20 ° C)		1.522 - 1.534
Плотность (20 ° C)	г/мл	1.087 - 1.092
2-Феноксизтанол	% (w/w)	88.5 - 91.5
Этилгексилглицерин (по разности)	% (w/w)	8.5 - 11.5