



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **51148** (13) **U**  
(51) МПК (2009)  
**A61K 35/74** (2006.01)  
**A23C 9/12**  
**C12N 1/20**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

**(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ПРЕПАРАТУ ІЗ ПРОБІОТИЧНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ "СИМБІТЕР КОСМО" ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ У КОСМЕТОЛОГІЇ**

1

(21) u200911493

(22) 12.11.2009

(24) 12.07.2010

(46) 12.07.2010, Бюл.№ 13, 2010 р.

(72) ШИРОБОКОВ ВОЛОДИМИР ПАВЛОВИЧ, ЯНКОВСЬКИЙ ДМИТРО СТАНІСЛАВОВИЧ, ДИМЕНТ ГАЛИНА СЕМЕНІВНА

(73) ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ ФІРМА "О.Д. ПРОЛІСОК"

(57) 1. Спосіб одержання препарату із пробіотичними властивостями для застосування у косметології, що передбачає культивування в поживному середовищі біфідобактерій видів *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium infantis* й *Bifidobacterium breve*, який **відрізняється** тим, що до складу препарату додатково вводять лактобацили видів *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. gasseri* й *L. fermentum* і пропіоновоки-

2

слі бактерії видів *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* і *P. acidipropionici*, як поживне середовище використовують суміш знежиреного молока із зародками пшениці і 5-6%-м гелем дрібнодисперсного бентоніту, при цьому кількість зародків пшениці у поживному середовищі становить 8-10 %, а молочну суспензію зародків пшениці змішують із гелем дрібнодисперсного бентоніту в співвідношенні 1:2-1:3.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що до складу препарату додатково вводять спиртовий екстракт прополісу.

3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що до складу препарату додатково вводять йод у вигляді водного або спиртового розчину.

4. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що до складу препарату додатково вводять протимікозні засоби.

Корисна модель відноситься до біотехнології й може бути використана для приготування косметичних засобів, зокрема масок для шкіри й волосся, кремів, шампунів, засобів для бальнеології й ін.

Несприятливі екологічні умови, порушення раціону харчування, зловживання алкогольними напоями, паління, нераціональна медикаментозна терапія й інші фактори, що супроводжують життя сучасного людського співтовариства, сприяють збільшенню числа осіб з косметичними проблемами. Якість шкіри й волосся нерозривно пов'язані зі станом інших органів і систем, які, у свою чергу, залежать від функціонування мікробних екосистем, причому не тільки шкірних покривів, але й інших біотопів. Нормальна симбіотична мікрофлора, асоційована зі слизовими оболонками й шкірними покривами, виконуючи колосальний спектр найважливіших фізіологічних функцій, вносить вагомий вклад у забезпечення нормального функціонування всіх органів і тканин, у тому числі здоров'я шкіри й волосся. Порушення складу і функцій

симбіотичної мікрофлори людини негативно позначається на травленні, метаболізмі, знижує захисні функції організму, погіршує забезпечення різних органів і тканин вітамінами, незамінними амінокислотами, мінеральними речовинами й іншими важливими нутрієнтами, що приводить до виникнення різних захворювань, виявлення багатьох з яких супроводжується серйозними косметологічними проблемами. Найбільш ефективний метод відновлення нормальних біоценозів і порушених функцій заснований на пероральному використанні пробіотиків й оздоровленні за рахунок цього мікрофлори травного тракту. Дані препарати усе активніше проникають у косметологію також як волоссям, що пов'язане із установами їхнього позитивного впливу на шкіру при місцевому застосуванні.

Відомо спосіб одержання косметичних засобів, що передбачає культивування штаму *Bifidobacterium lactis* 668 у живильному біфідум-середовищі при температурі 37-38°C до одержан-

(13) **U**

(11) **51148**

(19) **UA**

ня біомаси з концентрацією живих клітин не менш  $10^8$  КУО/мл і введення одержаної біомаси до складу косметичного засобу (WO/2006/073329).

Використання живих клітин біфідобактерій і продуктів їхнього метаболізму дозволяє підвищити ефективність косметичного засобу за рахунок підвищення його антимікробної активності щодо патогенних й умовно-патогенних мікроорганізмів, а також додавання йому зволожуючих, зідбілюючих і живильних властивостей. Однак використання одного штаму пробіотичних бактерій не дозволяє збагатити косметичний засіб широким спектром корисних сполук і забезпечити необхідну активність захисту шкіри від несприятливих впливів зовнішнього середовища й шкідливої мікрофлори.

Відомо також спосіб використання як лікувальної маски для догляду за жирною шкірою обличчя й шиї кислomолочного продукту «Наріне-форте», що містить лактобацили виду *Lactobacillus acidophilus* і біфідобактерії виду *Bifidobacterium bifidum* із загальною концентрацією живих клітин пробіотичних бактерій до  $10^9$  КУО/мл (<http://lenmama.ru/news/2008-10-13-78>).

Введення до складу косметичного засобу пробіотичного компоненту, що містить два види фізіологічно цінних бактерій, дозволяє підсилити корисний ефект маски й сприяє звільненню шкірних покривів від патогенних мікроорганізмів. Високий вміст у складі косметичної маски молочної кислоти, синтезованої переважно лактобацилами виду *Lactobacillus acidophilus*, сприяє більш швидкому зникненню гнійних висипань і надає масці відбілюючий ефект, однак приводить до втрати шкірою вологи. Тому маска може використовуватися тільки у випадку зайво жирного типу шкіри.

Найбільш близьким до способу, що заявляється є спосіб одержання косметичного засобу, що передбачає використання консорціуму штамів біфідобактерій *Bifidobacterium bifidum* ВКПМ АС-1688, *Bifidobacterium Jongii* ВКПМ АС-1689, *Bifidobacterium adolescentis* ВКПМ АС-1690, *Bifidobacterium infantis* ВКПМ АС-1692, *Bifidobacterium breve* ВКПМ АС-1691, при цьому ліофілізовані штами активізують шляхом посіву в поживне середовище, культивують при температурі 37-38,5°C до одержання біомаси з концентрацією клітин не менш 10 КУО/мл, біомасу кожного зі штамів у кількості не більше 10% вносять у свіже поживне середовище, культивують при температурі 37-38,5°C до одержання біомаси з концентрацією клітин не менше 10 КУО/мл, біомасу кожного зі штамів змішують для одержання консорціуму, який у кількості не більше 5% вносять у біореактор з тіогліколевим середовищем, інкубують при 37,5-38°C при слабкому перемішуванні до досягнення титру біфідобактерій  $10^9$  клітин/мл. Після чого отриману суспензію клітин руйнують нагріванням в автоклаві й змішують із кремовою основою у співвідношенні 1:2-1:20 залежно від призначення виготовленого крему (Патент України 74316, С12N1/20, А61К35/74, А23С9/12, А23L1/29, 2005 - прототип).

Використання 5 штамів біфідобактерій різних видів сприяє концентруванню в біомасі широкого спектра біологічно активних сполук, які підвищують живильні, зволожуючі й захисні властивості

косметичного засобу. Недоліком способу є обмеження пробіотичного компоненту засобу тільки біфідобактеріями, що знижує спектр його позитивних впливів на шкіру, а автоклавування біомаси приводить до руйнування клітин і зниження активності термолабільних продуктів їхнього метаболізму, що негативно позначається на якості косметичного засобу. Крім того, у складі косметичного засобу не використовуються додаткові натуральні продукти, що сприяють підвищенню його ефективності за рахунок розширення спектра оздоровчих властивостей. Галузь застосування відомого препарату обмежується місцевим впливом на шкіру без врахування залежності її стану від властивостей мікробіоценозів інших біотопів, насамперед травного тракту.

Завданням корисної моделі є створення способу одержання препарату із пробіотичними властивостями для використання в косметології, у якому шляхом введення до складу препарату додаткових видів пробіотичних бактерій, зародків пшениці й гелю дрібнодисперсного бентоніту, забезпечується розширення спектра оздоровчих властивостей препарату й сфери його застосування в косметології.

Поставлене завдання вирішується тим, що в способі одержання препарату із пробіотичними властивостями, що передбачає культивування в поживному середовищі біфідобактерій видів *Bifidobacterium bifidum*, *Bifido bacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium infantis* і *Bifidobacterium breve*, до складу препарату додатково вводять лактобацили видів *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. gasseri*, *L. fermentum* і пропіоновокислі бактерії видів *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* й *P. acidipropionici*, як поживне середовище використовують суміш знежиреного молока із зародками пшениці й 5-6%-м гелем дрібнодисперсного бентоніту, при цьому кількість зародків пшениці в живильному середовищі становить 8-10%, а молочну суспензію зародків пшениці змішують із гелем бентоніту у співвідношенні 1:2-1:3.

Крім того, до складу препарату може вводиться спиртовий екстракт прополісу; або йод у вигляді водного або спиртового розчину; або антимікозні препарати.

Пропонований спосіб передбачає введення до складу препарату зародків пшениці, які являють собою натуральний комплекс цінних біологічно активних сполук, що благотворно впливають на організм людини, у тому числі на стан шкіри й волосся. У зародках пшениці міститься до 30% рослинного білка, а також вуглеводи, поліненасичені жирні кислоти, незамінні амінокислоти, мінеральні компоненти й потужні антиоксиданти. За рахунок введення до складу препарату зародків пшениці він збагачується даними цінними сполуками, а косметичні засоби, які одержують з їх використанням, здобувають додаткові корисні властивості, зокрема живильні, захисні, зволожуючі. Крім того, як показали спеціально проведені дослідження, зародки пшениці виявилися потужним стимулятором росту популяцій сахаролітичних анаеробних бактерій. При цьому пробіотичні бактерії всіх вико-

ристовуваних у пропонованому способі родів (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus* й *Propionibacterium*) однаковою мірою активізуються зародками пшениці (табл.1). Це сприяє збільшенню в складі препарату концентрації життєдіяльних клітин пробіотичних бактерій і фізіологічно цінних продуктів їхнього метаболізму.

У присутності зародків пшениці помітно підвищується сахаролітична здатність мультисимбіозу, що виражається в збільшенні концентрації коротколанцюгових жирних кислот (табл.2), що чинять потужний антимікробний ефект, відбілюючий та розгладжуючий вплив на епідерміс шкіри, а також здатність до синтезу вітамінів й екзополісахаридів, що підвищують живильну цінність косметичного засобу (табл.4).

Молочна суспензія зародків пшениці використовується як один з базових компонентів середовища культивування. Спеціально проведені дослідження встановили, що оптимальна концентрація зародків пшениці при готуванні її суспензії в знежиреному молоці становить 8-10%. Подальше збільшення концентрації понад 10% не приводить до помітних змін концентрації клітин і ферментативної активності пробіотичної флори. Зменшення ж концентрації зародків пшениці нижче 8% приводить до зниження біомаси клітин й її біологічної активності.

Відповідно до пропонованого способу до складу препарату вводять гель дрібнодисперсного бентоніту, що становить другий базовий компонент середовища культивування.

Бентоніт - це природний глинистий матеріал, що відноситься до класу алюмосилікатів і володіє високими іонообмінними, вологоутримуючими й адсорбційними властивостями. Ці властивості бентоніту послужили підставою для широкого використання його в косметології, особливо як основу косметичних масок. Він відноситься до природних глин і йому властиві всі позитивні ефекти, об'єднані в поняття «глинотерапія».

Відомі способи одержання косметичних засобів з використанням бентоніту (Патент РФ 2147430, А61К7/48, 2000; ТУ 9154-008-42197821-98 «Маска очисна «Біловодськ»; ТУ 936545-005-16925875-98 «Косметичні маски «Мінеральна», «Клеопатра», «Кія») передбачають механічне здрібнювання бентоніту, просівання для видалення сторонніх включень, прожарювання з метою зневоднювання, знезаражування й очищення від газів, змішування з дистильованою водою й перемішування.

Одержана таким способом суспензія бентоніту сприяє підвищенню ефективності косметичного засобу за рахунок збагачення його мінеральними речовинами й здатністю адсорбувати окремі токсини, мікробні клітини й хворі клітини епідерміса. Однак недостатній ступінь диспергування бентоніту й очищення від сторонніх домішок знижують адсорбційну здатність суспензії, її вологоутримуючі й іонообмінні властивості, що обмежує галузь застосування одержуваного препарату бентоніту. Зокрема, недостатній ступінь диспергування бентоніту не дозволяє його використовувати для ефективного звільнення шкірних покривів від вірусів і

ряду низькомолекулярних шкідливих сполук. Здатність грубих часток бентоніту зв'язувати бактеріальні клітини може приводити до порушення складу мікробіоценозу шкіри. Крім того, низький ступінь очищення бентоніту від сторонніх домішок, деякі з яких можуть бути шкідливими для здоров'я, обмежує можливості його використання для одержання косметичних засобів.

Гель бентоніту, який використовують у пропонованому способі, є натрієвою формою дрібнодисперсної фракції бентоніту, яку одержують із сухого природного бентоніту шляхом використання спеціальних методів диспергування й глибокого очищення від забруднюючих речовин і грубих часток. Він має високі адсорбційні властивості щодо вірусів, токсинів, ферментів патогенності бактерій, радіонуклідів, важких металів й інших шкідливих сполук, однак не зв'язує бактеріальні клітини, тому не здатний порушувати мікробний баланс в екосистемах людини, у тому числі в шкірному біотопі й викликати метаболічні порушення.

При введенні гелю бентоніту до складу поживного середовища дрібнодисперсний сорбент зв'язується з поверхневими структурами бактеріальних клітин, що культивуються у даному середовищі, і покриває їх захисним шаром, захищаючи від впливу інгібуючих факторів. Аналогічну захисну дію він чинить щодо фізіологічної мікрофлори шкірного біоценозу, створюючи оптимальні умови для її функціонування. Бентоніт є цінним джерелом макро- і мікроелементів, які живлять шкіру й волосся. Завдяки здатності активно зв'язувати воду, набухати й формувати гелі, дрібнодисперсний бентоніт, на відміну від грубодисперсних сорбентів, не здатний впливати на чутливу шкіру, а навпроти, має обволікаючі властивості й сприяє її зволоженню, живленню й зміцненню. За рахунок здатності нормалізувати кислотно-лужний баланс, бентоніт при контакті зі шкірними покривами каталізує перебіг біохімічних реакцій, нормалізує обмін речовин у тканинах і забезпечує оптимальний перебіг синтетичних процесів, відповідальних за регенераційні й пластичні процеси. Бентоніт сприяє вирівнюванню швидкості процесів синтезу колагену і його деструкції за рахунок оптимізації функції ферментів шкіри, робота яких залежить від фізико-хімічних властивостей того середовища, у якому їм доводиться діяти. Перелічені особливості гелю дрібнодисперсного бентоніту дозволяють використовувати одержаний пропонованим способом комплексний препарат тривалими курсами, без небезпеки розвитку негативних ефектів косметологічних процедур, у тому числі в осіб з підвищеною чутливістю шкіри. У той же час, виявлена в експериментах здатність гелю бентоніту активно адсорбувати віруси, актуальна з урахуванням неухильного збільшення частоти випадків косметологічних проблем, обумовлених вірусними інфекціями. Важливою властивістю препарату є можливість комплексного його використання як біологічно активної добавки в косметичних засобах й у вигляді перорального пробіотика для підтримки або відновлення мікробіоценозів травного тракту.

Результати досліджень показали, що концентрація життєдіяльних клітин пробіотичних бактерій у препараті і його оздоровчі функції, у тому числі антивірусна активність, помітно збільшуються у комплексному застосуванні в складі середовища для культивування клітин пробіотичного симбіозу молочної суспензії зародків пшениці й гелю бентоніту.

Пропонований спосіб передбачає використання гелю бентоніту з концентрацією сухих речовин 5-6%. Зниження концентрації бентоніту в гелі менш 5% зменшує ефективність пробіотика внаслідок зниження в ньому концентрації життєдіяльних клітин фізіологічних бактерій й їхніх функцій, у тому числі антивірусної активності. Збільшення концентрації бентоніту в гелі понад 6% недоцільно, оскільки не впливає на ефективність препарату, але ускладнює технологію одержання гелю.

Гель бентоніту змішують із молочною суспензією зародків пшениці у співвідношенні 1:2-1:3. Дане співвідношення є оптимальним для одержання препарату з високою концентрацією бактеріальних клітин і широким спектром фізіологічно цінних властивостей. Зміна співвідношення у бік зменшення кількості гелю бентоніту призводить до зниження в препараті концентрації життєдіяльних клітин пробіотичних бактерій, корисних мінеральних речовин, а також зниження антивірусної активності препарату. Зміна співвідношення у бік збільшення концентрації гелю бентоніту недоцільна, оскільки зайво розбавляє середовище й знижує концентрацію в ній біологічно-цінних сполук зародків пшениці, що може привести до зниження інтенсивності росту мікрофлори й подовження процесу культивування.

Спосіб здійснюють таким чином.

Для приготування поживного середовища зародки пшениці змішують зі знежиреним молоком з розрахунку одержання суспензії 8-10%-ої концентрації. Отриману суспензію змішують у співвідношенні 1:2-1:3 з 5-6%-м гелем дрібнодисперсного бентоніту, стерилізують при температурі 121°C протягом 25-35 хвилин і охолоджують до 35-38°C. Підготовлене середовище інокують 3-5% культури симбіозу лактобацил, біфідобактерій і пропіоновокислих бактерій.

Для створення мультикомпонентного симбіозу використовують відібрані за пробіотичними властивостями штами наступних видів: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus gasseri*, *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* і *Propionibacterium acidipropionici*.

Отриманий комплекс штамів вносять у середовище на основі молочної суспензії зародків пшениці й гелю бентоніту. Інокульоване середовище ферментують протягом 24-28 годин при температурі 35-37°C. Дослідженнями встановлено, що при сполученні штамів в оптимальних співвідношеннях вони формують стійкий мультикомпонентний симбіоз. Отриманий симбіоз використовують як посівний матеріал для одержання інокуляту.

Послу інокуляції середовище витримують при температурі 35-38°C протягом 20-24 годин й одержують препарат з високою концентрацією життєдіяльних клітин пробіотичних бактерій, фізіологічно цінних продуктів їхнього метаболізму й біологічно активних сполук компонентів середовища.

Корисна модель пояснюється прикладами.

#### Приклад 1

Спосіб одержання препарату із пробіотичними властивостями для використання у складі косметичних масок для шкіри обличчя.

24кг сухого препарату зародків пшениці суспендують у 30л знежиреного молока, потім доводять об'єм молоком до 100л. Приготовлену суспензію змішують із 200л 5%-го гелю дрібнодисперсного бентоніту. Суміш стерилізують при температурі 121°C протягом 25 хвилин і охолоджують до температури 38°C. У підготовлені 300л середовища вносять 9 л інокуляту, приготовленого на основі мультикомпонентного симбіозу пробіотичних мікроорганізмів.

Для одержання симбіозу в поживне середовище на основі молочної суспензії зародків пшениці й гелю бентоніту вносять культури наступних штамів у співвідношеннях:

*Bifidobacterium bifidum* IMB B-7113-2  
*Bifidobacterium longum* IMB B-7150-3  
*Bifidobacterium adolescentis* IMB B-7112-2  
*Bifidobacterium infantis* IMB B-7147-3  
*Bifidobacterium breve* IMB B-7132-3  
*Lactobacillus acidophilus* ВКПМ B-5863-1  
*Lactobacillus casei* ВКПМ B-5724-4  
*Lactobacillus fermentum* IMB B-7133-4  
*Lactobacillus plantarum* IMB B-7116-3  
*Lactobacillus gasseri* IMB B-7135-3  
*Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* ВКПМ B-4544-5  
*Propionibacterium acidipropionici* ВКПМ B-5800-5.

Інокульоване середовище витримують при температурі 35°C протягом 28 годин, потім здійснюють ще 3 пересівання в середовище ідентичного складу з періодичністю 2 доби до одержання стійкого мультисимбіозу.

Для приготування інокуляту в 9л стерильного середовища на основі 8%-ої молочної суспензії зародків пшениці з додаванням 5%-гелю бентоніту в співвідношенні 1:2 вносять 0,45л культури мультикомпонентного симбіозу. Суміш перемішують і витримують при температурі 35°C протягом 20 годин.

Отриманий інокулят вносять у 300л основної маси приготовленого поживного середовища й з культивують при температурі 38°C протягом 20 годин. Характеристика отриманого препарату представлена в таблиці 4.

При одержанні косметичних масок препарат можна використовувати безпосередньо або після змішування з додатковою косметичною основою в співвідношенні 1:1.

#### Приклад 2

Спосіб одержання препарату із пробіотичними властивостями для використання у складі косметичних кремів.

20кг зародків пшениці суспендують у 25л знежиреного молока, потім доводять об'єм до 50л. Приготовлену суспензію змішують із 150л 6%-го гелю бентоніту. Суміш стерилізують при температурі 121°C протягом 35 хвилин і охолоджують до температури 35°C. У підготовлені 200л середовища вносять 10л інокуляту, приготовленого на основі мультикомпонентного симбіозу пробіотичних мікроорганізмів.

Для одержання симбіозу в поживне середовище на основі суспензії зародків пшениці й гелю бентоніту вносять культури наступних штамів у співвідношеннях:

*Bifidobacterium bifidum* ВКПМ В-5799-3  
*Bifidobacterium longum* ВКПМ В-4557-3  
*Bifidobacterium adolescentis* ІМБ В-7112-2  
*Bifidobacterium infantis* ІМБ В-7131-4  
*Bifidobacterium breve* ІМБ В-7149-3  
*Lactobacillus acidophilus* ВКПМ В-5254-1  
*Lactobacillus casei* ВКПМ В-4542-5  
*Lactobacillus fermentum* ІМБ В-7146-5  
*Lactobacillus plantarum* ІМБ В-7116-2  
*Lactobacillus gasseri* ІМБ В-7145-3  
*Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii*  
ВКПМ В-4545-6

*Propionibacterium acidipropionici* ВКПМ В-5723-5.

Інокульоване середовище витримують при температурі 35°C протягом 24 годин, потім здійснюють ще 3 пересівання в середовище ідентичного складу з періодичністю 2 доби до одержання стійкого мультисимбіозу.

Для приготування інокуляту у 10л стерильного середовища на основі 10%-ої суспензії зародків пшениці в молоці з додаванням 6%-го гелю бентоніту в співвідношенні 1:3 вносять 0,5л мультикомпонентного симбіозу. Суміш перемішують і витримують при температурі 35°C протягом 24 годин.

Отриманий інокулят уводять в 200л основної маси приготовленого поживного середовища й культивують при 35°C протягом 24 годин.

Характеристика отриманого препарату приведена в таблиці 4.

При одержанні косметичного крему препарат змішують із додатковими інгредієнтами у співвідношенні 1:2-1:10.

#### Приклад 3

Спосіб одержання препарату із пробіотичними властивостями для використання у складі масок для волосся.

31,5кг зародків пшениці суспендують у 40л знежиреного молока, потім доводять об'єм молока до 100л. Приготовлену суспензію змішують із 250л 5,5%-го гелю дрібнодисперсного бентоніту. Суміш стерилізують при температурі 121°C протягом 30 хвилин і охолоджують до температури 36°C. У підготовлені 350л середовища вносять 17кг інокуляту, приготовленого на основі симбіозу пробіотичних мікроорганізмів.

Для одержання симбіозу у поживне середовище на основі суспензії зародків пшениці й гелю бентоніту вносять культури наступних штамів у співвідношеннях:

*Bifidobacterium bifidum* ВКПМ В-5799-2  
*Bifidobacterium longum* ІМБ В-7150-5

*Bifidobacterium adolescentis* ІМБ В-7148-2  
*Bifidobacterium infantis* ІМБ В-7131-5  
*Bifidobacterium breve* ІМБ В-7132-5  
*Lactobacillus acidophilus* ЦМПМ В-2846-0,5  
*Lactobacillus casei* ВКПМ В-4542-4  
*Lactobacillus fermentum* ІМБ В-7133-5  
*Lactobacillus plantarum* ІМБ В-7116-3  
*Lactobacillus gasseri* ІМБ В-7135-2  
*Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii*  
ВКПМ В-4545-5

*Propionibacterium acidipropionici* ВКПМ В-5800-5.

Інокульоване середовище витримують при температурі 36°C протягом 26 годин, потім здійснюють ще 3 пересівання в середовище ідентичного складу з періодичністю 2 доби до одержання стійкого мультисимбіозу.

Для приготування інокуляту до 17,5л стерильного середовища на основі 9%-ої молочної суспензії зародків пшениці з додаванням 5,5%-го гелю бентоніту в співвідношенні 1,0:2,5 вносять 0,6л мультикомпонентного симбіозу. Суміш перемішують і витримують при температурі 36°C протягом 23 годин.

Отриманий інокулят уводять в 350л основної маси приготовленого середовища культивування й витримують при 36°C протягом 22 годин.

Характеристика отриманого препарату приведена в таблиці 4.

При одержанні масок для волосся препарат можна використовувати безпосередньо або після змішування з відповідною основою у співвідношенні 1:1-1:3.

#### Приклад 4

Спосіб одержання препарату із пробіотичними властивостями для використання в складі масок для шкіри обличчя при вугровій висипці й захворюваннях щитовидної залози.

Спосіб здійснюють відповідно до прикладу 1 за винятком того, що в препарат уводять препарат йоду у вигляді водного або спиртового розчину дрібнокристалічного йоду й йодиду калію з розрахунку одержання в готовому препараті 5мг/мл йоду.

Характеристика отриманого препарату приведена в таблиці 4.

#### Приклад 5

Спосіб одержання препарату із пробіотичними властивостями для використання у складі антибактеріальних косметичних засобів.

Спосіб здійснюють відповідно до прикладу 2 за винятком того, що в препарат уводять спиртовий екстракт прополісу з розрахунку одержання в готовому препараті прополісу в концентрації 50мг/мл.

Характеристика отриманого препарату приведена в таблиці 4.

#### Приклад 6

Спосіб одержання препарату із пробіотичними властивостями для використання у складі шампунів і масок для волосся із антимікозною дією.

Спосіб здійснюють відповідно до прикладу 3 за винятком того, що в препарат уводять антимікозні препарати, наприклад міконазол.

У таблицях 1 і 2 приведені дані, що характеризують вплив різних концентрацій зародків пшениці на ріст клітин пробіотичних бактерій і синтез ними коротколанцюгових жирних кислот, які є основним продуктом метаболізму сахаролітичних анаеробів і виконують широкий спектр фізіологічних функцій в організмі людини, у тому числі впливають на стан шкіри. Як свідчать наведені дані, зародки пшениці чинять потужний стимулюючий вплив на ріст пуляцій і ферментативну активність всіх груп пробіотичних бактерій, які використовуються у пропонованому способі. Максимальний ступінь стимулювання спостерігається при вмісті в середовищі 8-10% зародків пшениці.

У таблиці 3 представлені дані, що характеризують розвиток клітин і синтез коротколанцюгових жирних кислот мультикомпонентним симбіозом пробіотичних бактерій у середовищі на основі суспензії зародків пшениці й гелю бентоніту. Представлені в таблиці дані свідчать про те, що введення до складу середовища культивування гелю дрібнодисперсного бентоніту в пропонованій концентрації оптимізує умови для розвитку пробіотичної мікрофлори і її ферментативної діяльності. Пропоноване співвідношення компонентів пожив-

ного середовища сприяє суттєвому підвищенню антагоністичної активності препарату щодо патогенних й умовно-патогенних бактерій і грибів, а також збільшує ступінь адсорбції вірусів.

У таблиці 4 представлена порівняльна характеристика препаратів із пробіотичними властивостями, одержаних пропонованим і відомим способами. Спосіб, що заявляється, дозволяє одержати препарат із пробіотичними властивостями, що відрізняється від прототипу мультикомпонентним складом фізіологічно корисних мікроорганізмів, високою концентрацією біологічно активних клітин і їхніх метаболітів і широким спектром корисних властивостей, у тому числі високою антагоністичною активністю щодо шкідливих для шкіри мікроорганізмів.

Препарат із пробіотичними властивостями, отриманий відповідно до пропонованого способу, використовують безпосередньо як засіб косметології або змішують із додатковими інгредієнтами. Препарат можна також використовувати як пероральний засіб пробіотичної терапії. Одночасний пробіотичний вплив на шкірні покриви й біотопи травного тракту значно підсилює оздоровчий ефект косметологічних процедур.

Таблиця 1

Вплив зародків пшениці на розвиток клітин пробіотичних бактерій  
(концентрація клітин після 24-годинного культивування, lg КУО/см<sup>3</sup>)

Концентрація зародків пшениці у середовищі, %	Види пробіотичних бактерій		
	Lactobacillus	Bifidobacterium	Propionibacterium
	6,9±0,51	6,0±0,58	6,3±0,66
5	7,5±0,34	7,7±0,39	8,4±0,59
6	7,9±0,56	8,9±0,48	9,4±0,46
7	8,3±0,88	9,2±0,64	9,8±0,51
8	9,1±1,01	9,7±0,58	10,3±0,79
10	9,4±0,84	9,9±0,67	10,4±0,80
12	9,1±0,69	9,8±0,70	10,4±0,57

Таблиця 2

Вплив зародків пшениці на синтез коротколанцюгових жирних кислот мультикомпонентним симбіозом

Концентрація шроту зародків пшениці в середовищі, %	Концентрація кислоти в середовищі, %		
	молочна	оцтова	пропіонова
	0,42±0,09	0,38±0,05	0,32±0,10
5	0,54±0,12	0,49±0,09	0,39±0,07
6	0,61±0,06	0,58±0,08	0,41±0,09
7	0,86±0,08	0,66±0,03	0,55±0,04
8	1,02±0,09	0,73±0,11	0,62±0,05
10	1,08±0,09	0,71±0,07	0,66±0,08
12	1,10±0,11	0,69±0,09	0,64±0,13

Таблиця 3

Розвиток клітин і синтез коротколанцюгових жирних кислот (КЛЖК) мули ікомпонентним симбіозом пробіотичних бактерій у середовищі на основі молочної суспензії зародків пшениці й гелю бентоніту

Показники	Співвідношення 8-10%-ої суспензії зародків пшениці в молоці й 5-6 %-го гелю бентоніту			
	1:0	1:1	1:2	1:3
Концентрація клітин після 24-годинного культивування в середовищі, Іг КУО/см <sup>3</sup> :				
<i>Lactobacillus</i>	9,4±1,01	10,8±0,93	10,9±0,71	10,0±0,94
<i>Bifidobacterium</i>	9,7±0,58	11,1±1,03	11,0±0,88	10,9±0,74
<i>Propionibacterium</i>	10,3±0,80	10,8±1,13	10,7±0,48	10,8±1,23
Синтез КЛЖК, %:				
молочна кислота	1,08±0,09	1,21±0,07	1,20±0,10	1,15±0,04
оцтова кислота	0,71±0,07	0,80±0,05	0,81±0,09	0,80±0,05
пропіонова кислота	0,66±0,08	0,77±0,11	0,78±0,10	0,72±0,08
Ступінь адсорбції вірусних часток, %	5,8±0,5	99,0±0,2	99,9±0,1	99,9±0,1
Антагоністична активність щодо <i>Propionibacterium acnes</i> (зона затримки росту мікроорганізмів - збудників вугрової висипки), мм:	12	20	23	22
Антагоністична активність щодо <i>Candida albicans</i> (зона затримки росту мікроорганізмів збудників кандидоза), мм:	18	25	27	27

Таблиця 4

Порівняльна характеристика препаратів, приготовлених пропонованим і відомим способами

Показники	Характеристика мультисимбіоза	
	Прототип	Пропонований спосіб
Склад середовища культивування	Тиогліколеве середовище	Суспензія зародків пшениці в молоці + гель бентоніту
1	2	3
Концентрація клітин, Іг КУО/см <sup>3</sup> :		
<i>Bifidobacterium</i>	0	11,3±0,34
<i>Lactobacillus</i>	0	10,8±0,41
<i>Propionibacterium</i>	0	10,8±0,28
Синтез полісахаридів, %	0	2,99±0,38
Вміст жирних кислот, %:		
Молочна	1,06±0,19	1,02±0,23
Оцтова	0,73±0,11	0,98±0,15
Пропіонова	0	0,73±0,10
Вміст вітамінів, мкг/кг		
B <sub>1</sub>	0	850±21,4
B <sub>2</sub>	0	901±32,5
B <sub>12</sub>	0	930±42,8
Накопичення біомаси клітин симбіозу, г/л	10,6±0,77	15,4±1,05
Ступінь адсорбції вірусних часток, %	5,8±0,3	99,5±0,5
Антагоністична активність (зона затримки росту мікроорганізмів - збудників захворювань шкіри), мм:		
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	21-23
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	18-21
<i>Staphylococcus capitis</i>	-	23-24

Продовження таблиці 4

1	2	3
Staphylococcus haemolyticus	-	22-24
Staphylococcus hominis	6	23-26
Propionibacterium acnes	-	22-24
Streptococcus pyogenes		20-26
Escherichia coli	-	18-22
Proteus vulgaris	8	18-19
Pseudomonas aeruginosa	6	20-24
Micrococcus	5	23-26
Acinetobacter	-	20-22
Candida albicans	-	20-27
Pityrosporum	-	22-27