

УДК 579.66,665.582.3

## ВЫБОР И ОБОСНОВАНИЕ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИХ СВОЙСТВ КОСМЕТИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ ДЕЗОДОРИРУЮЩЕЕ И АНТИПЕРСПИРИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ. ЧАСТЬ 2. РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕСС-МЕТОДА ДЛЯ ОЦЕНКИ СОБСТВЕННОЙ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОДУКТОВ

© 2024 г. Ю. А. Пенкина<sup>1</sup>, В. Р. Норматова<sup>1</sup>, Т. Т. Н. Ха<sup>1</sup>, И. А. Буторова<sup>1</sup>, \*

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО “Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева”, Москва, 125480 Россия

\*e-mail: [yu.a.penkina@gmail.com](mailto:yu.a.penkina@gmail.com)

Поступила в редакцию 21.10.2024 г.

После доработки 19.11.2024 г.

Принята к публикации 22.11.2024 г.

Собственная антимикробная активность косметических средств против запаха пота является необходимым элементом их функциональных свойств. Для оценки данной характеристики в качестве тест-организмов были отобраны два штамма бактерий, характерных для подмышечной зоны: *Corynebacterium stationis* ВКПМ-В-10645 и *Micrococcus luteus* ВКПМ-В-7845, проявивших чувствительность ко всем испытуемым коммерческим образцам дезодорантов/антиперспирантов. Предложен экспресс-метод (метод “быстрой” микробиологии) с использованием 0.03%-ного водного раствора 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТХ). Подобраны условия проведения испытаний: количество внесимого в реакционную среду инокулята тест-штаммов, а также количество и способ внесения косметического средства для достоверного учёта результатов через 3 ч инкубации образцов. Данный экспресс-метод может быть использован для быстрой оценки антимикробной активности и рекомендован для анализа большого объема образцов, в частности, при поиске или синтезе новых активных ингредиентов-биоцидов и при массовом тестировании косметических средств против запаха пота.

**Ключевые слова:** антимикробное действие, экспресс-метод, 2,3,5-трифенилтетразолия хлорид (ТТХ), диско-диффузионный метод, дезодорант, антиперспирант, косметика, эффективность, потребительские свойства, функциональные свойства

**DOI:** 10.56304/S0234275824060115

Данные исследования являются продолжением выполненных ранее работ, которые были посвящены выбору и обоснованию методов оценки потребительских свойств косметической продукции по показателям дезодорирующее и антиперспирирующее действие [1].

Существующие методы оценки эффективности косметических средств для борьбы с запахом пота описаны в нашей предыдущей работе [1]. С момента ее опубликования появился ряд статей по данной тематике [2–6]. Для оценки дезодорирующей активности по-прежнему применяют традиционные методы: диско-диффузионный метод для определения зон ингибирования роста микроорганизмов, ответственных за образование запаха пота, определение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) активных компонентов,

субъективная оценка запаха специально подготовленными испытателями [2]. Из инструментальных методов используют определение пахучих соединений пота с помощью газовых сенсоров или метода ГХ-МС, но индивидуальность состава и количественного содержания этих соединений у разных людей затрудняет широкое применение ГХ-МС для данной цели [2].

Для определения антиперспирирующей активности используют как традиционные методы: гравиметрию (определение массы выделившегося пота, впитавшегося в ватный тампон или хлопчатобумажную ткань) или оценку площади пятен пота на ткани [2], так и более современные методы [2–6].

Поскольку причиной неприятного запаха пота является жизнедеятельность микроорганизмов на коже, дезодорирующая активность композиции после ее применения является результатом снижения их общего количества. Для косвенной

*Список сокращений:* ГХ-МС – газовая хроматография-масс-спектрометрия, ТТХ – 2,3,5-трифенилтетразолия хлорид, ТФФ – трифенилформазан.

**Таблица 1.** Перечень исследуемых косметических средств против запаха пота  
**Table 1.** The list of the test personal care products for neutralizing the sweat odour

№ п/п	Наименование косметического средства	Форма выпуска
1	Антиперспирант “Rexona. Прозрачный кристалл” (торговая марка <i>Unilever</i> , США)	Аэрозоль
2	Антиперспирант “REXONA антибактериальная и невидимая на черной и белой одежде” (торговая марка <i>Unilever</i> , США)	Аэрозоль
3	Дезодорант-антиперспирант “Garnier Mineral. Активный контроль” (торговая марка <i>Garnier</i> , Франция)	Аэрозоль
4	Дезодорант парфюмированный “Repute Такт” (торговая марка <i>Repute</i> , Турция)	Аэрозоль
5	Дезодорант “Энергия и свежесть” (торговая марка <i>Natura Siberica</i> , Россия)	Жидкость
6	Антиперспирант женский “PRO-защита” (торговая марка <i>Deonica</i> , Россия)	Аэрозоль
7	Дезодорант-спрей “Ритмы острова Бали Delight” (торговая марка <i>Fa</i> , международный)	Аэрозоль
8	Антиперспирант шариковый “Rexona. Прозрачный кристалл” (торговая марка <i>Unilever</i> , США)	Жидкость

оценки данной характеристики в нашем предыдущем исследовании показана возможность использования метода смывов с кожи подмышечных впадин добровольцев после применения косметического средства и без него с последующим посевом на плотную питательную среду и определением общей микробной обсемененности кожи (число КОЕ) [1]. В дезодорирующий эффект вносят вклад как собственное антибактериальное действие композиции косметического средства, так и ее антиперспирирующее действие [1].

В связи с этим представляло интерес изучить возможность применения методов определения антимикробной активности различных видов продукции для борьбы с запахом пота для косвенной оценки их функциональных свойств, что позволит исключить привлечение и участие в исследованиях добровольцев. При использовании в нашем предыдущем исследовании метода диффузии в агар антимикробная активность у образцов продукции в отношении традиционно используемых тест-микробов *Staphylococcus aureus* FDA 209P, *Pseudomonas aeruginosa* ВКПМ-В-8243 и *Bacillus subtilis* ВКПМ-В-13183 не была обнаружена [1]. В связи с этим дальнейшие исследования были направлены на поиск типичных для области подмышечных впадин микроорганизмов, которые могут рассматриваться в качестве тест-штаммов для проведения испытаний.

Согласно литературным данным в составе микробиоты подмышечной зоны здоровых лиц обнаруживаются такие виды микроорганизмов, как *Corynebacterium minutissimum*, *Corynebacterium xerosis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hatis*, *Propionibacterium* [7–9]. При этом наибольшее количество бактерий относятся к представителям родов *Corynebacterium* и *Staphylococcus* [10].

В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования явился поиск тест-штаммов микро-

организмов для оценки антимикробной активности косметических средств, предназначенных для устранения неприятного запаха в подмышечной зоне, и разработка экспресс-метода для определения их антимикробной активности.

#### УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

В работе использовали следующие штаммы микроорганизмов: *Staphylococcus epidermidis* ВКПМ-В-6304, *Corynebacterium stationis* ВКПМ-В-10645, *Propionibacterium acidipropionici* ВКПМ-В-12751, *Micrococcus luteus* ВКПМ-В-7845.

*S. epidermidis* выращивали на среде “Питательная среда № 8 ГРМ” (ТУ 9398-008-78095326-2007, ФБУН “Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии” (ФБУН ГНЦ ПМБ РФ)). Для *Corynebacterium stationis* и *Micrococcus luteus* использовали “Питательный агар для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-агар)” (ТУ 9398-020-78095326-2006, ФБУН ГНЦ ПМБ РФ) и жидкую питательную среду “БТН-бульон (питательный бульон)” (ТУ 9385-001-16542938-2008, ООО “Биотехновация”, РФ).

*Propionibacterium acidipropionici* выращивали на среде “Питательная среда для выделения и культивирования бифидобактерий сухая (Бифидум-среда)” (ТУ 9398-041-78095326-2008, ФБУН ГНЦ ПМБ РФ).

Для оценки антимикробной активности косметической продукции использовали коммерческие образцы дезодорантов/антиперспирантов. Для удобства косметические средства пронумерованы и представлены в виде таблицы (табл. 1).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Методом диффузии в агар [11] была оценена антимикробная активность коммерческих косметических средств против запаха пота. Результаты,

**Таблица 2.** Антимикробная активность косметических средств против запаха пота  
**Table 2.** Antimicrobial activity of the personal care products for neutralizing the sweat odour

Микроорганизмы	Диаметры зон ингибирования роста тест-микроорганизмов в присутствии косметических средств против запаха пота, мм				
	1	2	3	4	5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	–	–	–	–	–
<i>Corynebacterium stationis</i>	9–11	13–15	9–10	9–11	22–24
<i>Micrococcus luteus</i>	10–12	11–13	9–10	10–13	3–15
<i>Propionibacterium acidipropionii</i>	–	–	–	–	–

*Примечание.* Номер столбца соответствует номеру испытуемого образца продукции в табл. 1.  
*Note.* The column number corresponds to the number of the tested product sample in Table 1.

полученные для первых пяти продуктов, представлены в табл. 2.

У исследованных косметических средств в отношении штаммов *Staphylococcus epidermidis* ВК-ПМ-В-6304 и *Propionibacterium acidipropionici* ВК-ПМ-В-1275 антимикробной активности не было выявлено, но обнаружено антимикробное действие в отношении штаммов *Corynebacterium stationis* ВК-ПМ-В-10645 и *Micrococcus luteus* ВКПМ-В-7845. Соответственно, в качестве тест-микроорганизмов для оценки антимикробного действия косметических средств для подмышечной зоны в дальнейших исследованиях использовали именно эти штаммы:

- *Corynebacterium stationis* ВКПМ В-10645,
- *Micrococcus luteus* ВКПМ В-7845.

Метод диффузии в агар в настоящее время является общепризнанным и стандартным для определения антимикробной активности как индивидуальных соединений, так и различных композиций. Однако он предполагает культивирование микроорганизмов, что требует значительного времени (не менее 20 ч), достаточно трудоемкий, а также зависит от квалификации персонала.

В связи с этим представляют интерес методы оценки антимикробной активности веществ, основанные на определении метаболической (ферментативной) активности клеток тест-микроорганизмов. В основе данных методов лежит оценка изменения метаболической (ферментативной) активности тест-штаммов микроорганизмов в присутствии исследуемого образца по сравнению с контролем. В присутствии анализируемого продукта это изменение можно обнаружить за более короткое время (в течение 3–5 ч), когда рост клеток еще не фиксируется. Это так называемые “методы быстрой микробиологии”, которые особенно удобны на этапе разработки новых активных ингредиентов-биоцидов, когда возникает необходимость оценить большой объем образцов и быстро и без больших затрат отбраковать неудачные варианты.

Часто для этих целей используют вещества, которые под действием определенных ферментов микроорганизмов могут изменять цвет реакцион-

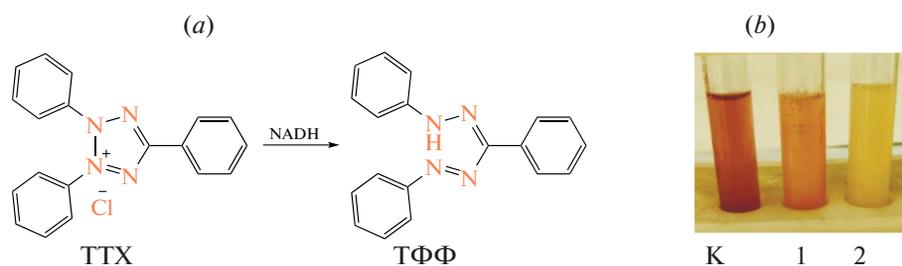
ной среды, что становится заметным уже через 2–4 ч инкубации при стандартных условиях [12–15]. Одним из таких соединений является 2,3,5-трифенилтетразолия хлорид (ТТХ), который под действием дегидрогеназ клеток микроорганизмов превращается в трифенилформаза (ТФФ). При этом происходит окрашивание бесцветного раствора в красный цвет.

В присутствии исследуемого соединения/продукта в зависимости от его антимикробной активности рост клеток замедляется, соответственно, изменение окраски реакционной среды будет менее интенсивным или не будет наблюдаться вовсе. Данное явление и было положено в основу разработки экспресс-метода оценки антибактериальной активности косметических средств для области подмышечных впадин (рис. 1).

В общем виде последовательность выполнения операций предлагаемого метода можно описать следующим образом.

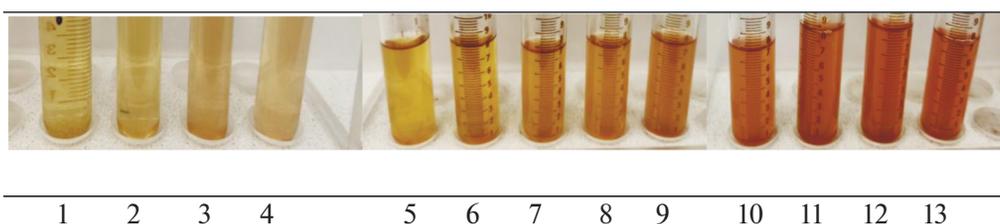
В пробирки с питательной средой вносят определенное количество подготовленной суспензии тест-микроорганизма и раствор ТТХ. Затем в опытные пробирки добавляют исследуемый образец. Пробирки помещают в термостат при оптимальной для тест-микроорганизмов температуре (30°C) на определенное время, по окончании которого пробы просматривают и оценивают изменение цвета по сравнению с контролем. Чем бледнее цвет суспензии по сравнению с контролем, тем более выражено антимикробное действие исследуемого образца по отношению к тест-микроорганизму. Поскольку речь идет об экспресс-методе, то реакция, вызывающая изменение окраски раствора ТТХ под действием дегидрогеназ тест-микроорганизмов не должна быть длительной. Поэтому на первом этапе были проведены исследования по определению количества инокулята, вносимого в реакционную среду, чтобы достоверное изменение окраски среды можно было наблюдать уже через 3 ч инкубации.

Традиционно для определения количества клеток применяют отраслевой стандартный обра-



**Рис. 1.** Определение антимикробной активности с использованием ТТХ. *a* – Реакция превращения ТТХ в ТФФ под действием дегидрогеназы микроорганизмов, *b* – изменение окраски реакционной среды в присутствии антимикробных препаратов: К – контроль, 1 и 2 – пробы, полученные при исследовании испытуемых образцов.

**Fig. 1.** Determination of antimicrobial activity using TTC. *a* – Reaction of transformation of TCA into TPP assisted by microbial dehydrogenase, *b* – colour change of the reaction medium in the presence of antimicrobial agents: K – control, 1 and 2 – samples obtained under specimens testing.



**Рис. 2.** Изменение цвета раствора ТТХ в присутствии тест-штамма *C. stationis* ВКПМ-В-10645.

**Fig. 2.** Colour change of TTC solution in the presence of the *C. stationis* VKPM-B-10645 test strain.

зец мутности, разработанный ГИСК им. Л. А. Тарасевича – СОС 42-28-85-02, коммерчески доступные стандарты мутности или стандарты мутности по Мак-Фарланду, приготовленные на основе хлорида бария. Поскольку визуально точно оценить мутность суспензии достаточно сложно, были проведены исследования по определению количества клеток тест-микроорганизмов в суспензии, используемой для посева. Для этого в подготовленные стерильные пробирки наливали по 5 мл жидкой питательной среды, добавляли по 1 мл 0.03%-ного водного раствора ТТХ и рабочую суспензию тест-микроорганизма (инокулят). Эта концентрация раствора ТТХ соответствовала описанной в литературе [12]. Инокулят тест-культур готовили путем смыва стерильным физиологическим раствором предварительно выросших при 30°C в течение 24 ч на плотной скошенной среде штаммов бактерий. Объем вносимого инокулята определяли по формуле (1), описанной в литературе [16]. Заданная (стартовая) оптическая плотность образцов при засевах, измеренная при длине волны

600 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм, изменялась в интервале от 0.02 до 3.0 ед.

$$V_{\text{инокулята}} = \frac{OD_{\text{задан.}} \cdot V_{\text{пробы}}}{OD_{\text{суспензии}}}, \text{ мл, где} \quad (1)$$

$V_{\text{инокулята}}$  – количество инокулята, мл;  
 $OD_{\text{задан.}}$  – заданное (стартовое) значение оптической плотности образца при засевах;  
 $V_{\text{пробы}}$  – объем пробы, мл (в исследованиях объем пробы равен 6.0 мл);  
 $OD_{\text{суспензии}}$  – оптическая плотность суспензии микроорганизмов (инокулята), полученной путем смыва выращенной культуры в пробирке на агаризованной питательной среде.

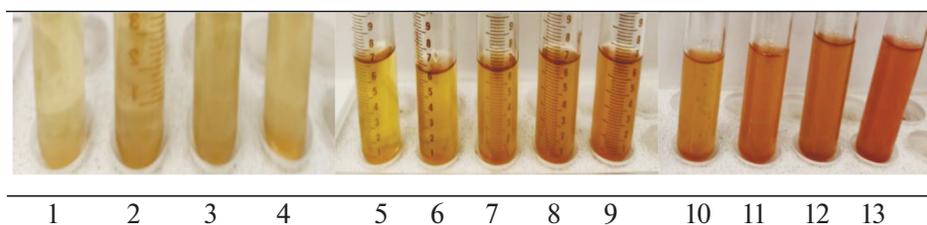
Полученные результаты представлены в табл. 3 и на рис. 2 и 3.

Степень изменения окраски испытуемых проб оценивали качественно, при этом знаком “–” обозначали отсутствие изменения цвета, знаком “±” обозначен случай, когда визуальная оценка окраски реакционной среды затруднена, а знаком

**Таблица 3.** Показатели заданной (стартовой) оптической плотности образцов

**Table 3.** The values of the samples predetermined absorbance

№ п/п	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Заданная (стартовая) OD	0.02	0.05	0.1	0.15	0.2	0.3	0.6	0.8	1	1.5	2	2.5	3



**Рис. 3.** Изменение цвета раствора ТТХ в присутствии тест-штамма *M. luteus* ВКПМ-В-7845.  
**Fig. 3.** Colour change of TTC solution in the presence of the *M. luteus* VKPM-V-7845 test strain.

“+++” обозначен наиболее интенсивный красный цвет реакционной среды, проявившийся через 3 ч инкубации (табл. 4).

Согласно результатам исследования, для проявления интенсивного окрашивания реакционной среды через 3 ч значение стартовой оптической плотности образца ( $OD_{\text{залан.}}$ ) при засеве должно составлять 3.0 ед. (опыт № 13).

При расसेве пробирок, засеянных с этой стартовой оптической плотностью на плотную питательную среду, было установлено, что количество клеток тест-микроорганизмов для штамма *C. stationis* ВКПМ-В-10645 составило  $(1.4 \pm 0.2) \times 10^8$  и для штамма *M. luteus* ВКПМ-В-7845 –  $(1.0 \pm 0.4) \times 10^8$ .

Чтобы исключить ложноположительные и/или ложноотрицательные результаты исследований, были отработаны условия подготовки образца косметического средства для проведения реакции и оценки результатов через 3 ч инкубации.

Подбор условий пробоподготовки проводили на образце (№ 1): антиперспирант “Rexona. Прозрачный кристалл” (аэрозоль).

Были опробованы следующие варианты подготовки образца дезодоранта.

1. Нанесение (методом разбрызгивания) на бумажный диск диаметром 6 мм.
2. Нанесение (методом разбрызгивания) на бумажную полоску размером  $10 \times 50$  мм.
3. Подготовка образца в соответствии с ГФ XIV, ОФС.1.2.4.0002.18 “Микробиологическая чистота” [17].

В соответствии с вышеуказанной фармакопейной статьей навеску продукта массой 3.0 г (после испарения пропеллента) вносили в 30 мл буферного раствора с получением объемного со-

отношения компонентов 1 : 10. Дополнительно были приготовлены образцы при соотношении продукта и буферного раствора 1 : 5 и 1 : 1. Количество раствора продукта, вносимого в реакционную смесь, составляло 1 мл.

Количество инокулята тест-микроорганизма, вносимое в подготовленные для инкубации пробирки, рассчитывали по вышеописанной формуле (1), обеспечивая значение заданной (стартовой) оптической плотности суспензии в 3.0 ед. Засеянные пробирки инкубировали в термостате при 30°C в течение 3 ч. Затем визуально оценивали изменение цвета реакционной среды. Согласно результатам исследования, все варианты подготовки образца дезодоранта оказались неудачными, через 3 ч инкубации цвет реакционной среды не изменился по сравнению с контролем, что, вероятно, обусловлено недостаточным количеством вносимого средства.

В дальнейших исследованиях дезодорант внесли непосредственно в подготовленные стерильные пробирки, аккуратно впрыскивая его с помощью клапана распыления. Затем в каждую пробирку добавляли по 5 мл питательного бульона, 1 мл 0.03%-ного водного раствора ТТХ и инокулят тест-культуры. Заданная (стартовая) оптическая плотность засеянных образцов составляла 3 ед. Количество продукта, вносимое в реакционную среду таким способом, составило от 0.1 до 0.7 г. Пробирки инкубировали при 30°C в течение 3 ч. Результаты представлены в табл. 5.

Таким образом, при внесении в реакционную среду косметического средства в количестве 0.1 г через 3 ч инкубации отмечено изменение окраски реакционной среды по сравнению с контролем, что свидетельствует о проявлении данным сред-

**Таблица 4.** Качественная оценка изменения цвета реакционной среды при инкубации штаммов *C. stationis* ВКПМ-В-10645 и *M. luteus* ВКПМ-В-7845

**Table 4.** The qualitative assessment of the reaction medium decoloration after incubation of the *C. stationis* VKPM-V-10645 and *M. luteus* VKPM-B-7845 strains

№ п/п	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<i>C. stationis</i>	–	–	–	–	–	±	±	+	+	+	++	++	+++
<i>M. luteus</i>	–	–	–	–	–	–	±	±	+	+	++	++	+++

**Таблица 5.** Влияние количества косметического средства, вносимого в реакционную среду, на изменение ее цвета  
**Table 5.** Effect of the amount of cosmetic product introduced into the reaction medium on its colour change

Тест-штаммы	Количество продукта, вносимого в реакционную среду, г			
	контроль	0.1	0.3	0.7
<i>C. stationis</i> ВКПМ-В-10645				
<i>M. luteus</i> ВКПМ-В-7845				

ством антимикробной активности в отношении исследуемых штаммов. Однако для более надёжной визуальной оценки антимикробной активности косметического средства его количество, вносимое в реакционную среду, целесообразно увеличить до 0.7 г, т. к. в этом случае наблюдается более контрастное изменение цвета реакционной среды.

Описанные условия были использованы для проверки образцов остальных коммерческих средств против запаха пота. Количество вносимого инокулята тест-штаммов в реакционную среду обеспечивало значение заданной (стартовой) оптической плотности суспензии 3 ед. В реакционную среду добавляли 0.7 г косметического средства. Через 3 ч инкубации при 30°C визуально оценивали изменение окраски испытуемых проб. Результаты представлены в табл. 6, где “к” – контрольная проба, “о” – опытная проба с косметическим средством.

Как следует из полученных результатов, изменение цвета реакционной среды в присутствии дезодорантов менее выражено по сравнению с антиперспирантами, что, вероятно, обусловлено особенностями компонентного состава косметических продуктов. Чтобы подтвердить антимикробную активность данных средств, было определено количество жизнеспособных клеток в их пробах. С этой целью они были оставлены в термостате при 30°C еще на 21 ч для дальнейшего роста бактерий. Через 24 ч суммарного культивирования из проб были сделаны посевы на плотную питательную среду для последующего подсчета количества жизнеспособных клеток. Для каждого опыта эксперимент проводили в трех повторностях. Результаты представлены в табл. 7.

Как следует из приведенных в табл. 7 данных, во всех случаях в присутствии испытуемого косметического средства отмечалось снижение количества жизнеспособных клеток на два порядка ( $\lg N_{\text{контр}} - \lg N_{\text{опыт}} = 2$ ), что свидетельствует о возможности оценки функциональных свойств данной продукции по показателю их антимикробной активности. Поскольку для некоторых образцов изменение цвета реакционной среды не является достаточно контрастным по сравнению с контролем, для исключения ложноотрицательного результата в таких случаях целесообразно дополнительно определять количество жизнеспособных клеток тест-культур.

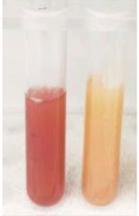
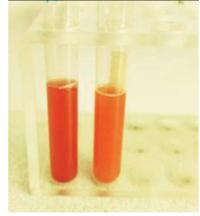
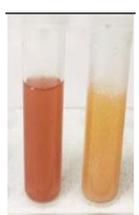
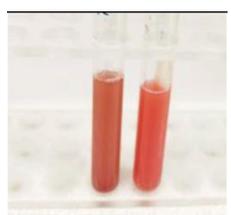
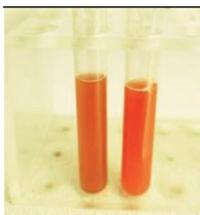
Таким образом, для косметической продукции против запаха пота в процессе отработки метода оценки антимикробной активности экспресс-методом с использованием раствора 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТХ) было подобрано необходимое количество вносимого инокулята, а также количество и способ внесения в реакционную среду косметического средства, изготовленного в виде аэрозоля.

Поскольку на рынке представлено большое количество шариковых (роликовых) средств по уходу за областью подмышечных впадин, представляло интерес оценить возможность использования экспресс-метода оценки антимикробной активности с раствором ТТХ и для такого вида продукции.

Исследования проводили для средства Антиперспирант шариковый “Rexona. Прозрачный кристалл”.

Основная задача, которую необходимо было решить, заключалась в выборе способа внесения

**Таблица 6.** Изменение окраски проб образцов коммерческих косметических средств против запаха пота в форме аэрозоля**Table 6.** Variation in colouration of the samples obtained using specimens of commercially available cosmetic products against sweat odour in aerosol form

Тест-штаммы	Коммерческие косметические средства против запаха пота в форме аэрозоля			
	Антиперспирант женский “Deonica. PRO-защита”	Дезодорант-антиперспирант “Garnier Mineral. Активный контроль”	Дезодорант парфюмированный “Repute Tact”	Дезодорант “Фа. Ритмы острова Бали”
<i>C. stationis</i> ВКПМ-В-10645	 к о	 к о	 к о	 к о
<i>M. luteus</i> ВКПМ-В-7845	 к о	 к о	 к о	 к о

**Таблица 7.** Количество жизнеспособных клеток тест-штаммов *C. stationis* ВКПМ-В-10645 и *M. luteus* ВКПМ-В-7845 в пробах, полученных с использованием образцов коммерческих косметических средств против запаха пота в форме аэрозоля**Table 7.** The viable cells amount of the *C. stationis* VKPM-V-10645 and *M. luteus* VKPM-B-7845 test strains in samples obtained using specimens of commercially available cosmetic products against sweat odour in aerosol form

Тест-штаммы	Количество жизнеспособных клеток тест-штаммов в пробах через 24 ч инкубации при 30°C				
	Контроль	Антиперспирант женский “Deonica. PRO-защита”	Дезодорант-антиперспирант “Garnier Mineral. Активный контроль”	Дезодорант парфюмированный “Repute Tact”	Дезодорант “Ритмы острова Бали”
<i>C. stationis</i>	$(1.41 \pm 0.2) \times 10^7$	$(1.33 \pm 0.1) \times 10^5$	$(1.70 \pm 0.2) \times 10^5$	$(2.11 \pm 0.1) \times 10^5$	$(2.24 \pm 0.1) \times 10^5$
<i>M. luteus</i>	$(5.02 \pm 0.4) \times 10^7$	$(1.81 \pm 0.3) \times 10^5$	$(1.66 \pm 0.5) \times 10^5$	$(3.08 \pm 0.2) \times 10^5$	$(3.15 \pm 0.4) \times 10^5$

средства в реакционную среду. Поскольку дезодорант шариковый, то в реакционную среду его можно внести только на носителе, например, путем нанесения на полоску фильтровальной бумаги. Ранее данный способ, опробованный для этого же средства, но в форме аэрозоля (антиперспирант “Rexona. Прозрачный кристалл”), нанесенного на полоску фильтровальной бумаги в количестве 0.1 г, не дал положительного результата. Вероятно, это было связано с недостаточным количеством средства на полоске.

Чтобы увеличить количество вносимого в реакционную среду средства, его наносили на стерильную полоску фильтровальной бумаги размером 10 × 50 мм в количестве 0.14 г. Для того, чтобы обеспечить достаточное для протекания реакции в течение 3 ч количество испытуемого средства, в подготовленные пробирки вносили по две полоски с нанесенным образцом. Таким образом, общее количество вносимого в реакционную среду средства составляло 0.28 г. Подготовленные и засеянные пробирки инкубировали в термостате

**Таблица 8.** Оценка антимикробной активности шарикового антиперспиранта “Rexona. Прозрачный кристалл”  
**Table 8.** The antimicrobial activity evaluation of the roll-on antiperspirant “Rexona. Transparent crystal”

Тест-штаммы	Количество вносимого косметического средства в реакцию среду, г		
	контроль	0.14 (одна полоска)	0.28 (две полоски)
<i>C. stationis</i> ВКПМ-В-10645			
<i>M. luteus</i> ВКПМ-В-7845			

при 30°C в течение 3 ч. Результаты представлены в табл. 8.

Согласно приведенным в табл. 8 данным, для получения достоверных результатов испытаний шариковых (роликовых) косметических средств против запаха пота при проведении реакции в течение 3 ч количество нанесенного на стерильную полоску фильтровальной бумаги средства должно быть не менее 0.28 г.

Таким образом, в процессе проведения исследований были отобраны два штамма бактерий: *Corynebacterium stationis* ВКПМ-В-10645 и *Micrococcus luteus* ВКПМ-В-7845, которые проявили чувствительность ко всем проверенным коммерческим косметическим средствам против запаха пота. Установлено, что для оценки функциональных свойств косметической продукции против запаха пота можно использовать метод определения антимикробной активности таких средств. Подобраны условия проведения экспресс-метода оценки антимикробной активности косметических средств против запаха пота с использованием 0.03%-ного водного раствора 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТХ): количество вносимого в реакцию среду инокулята тест-штаммов, а также количество и способ внесения косметического средства для достоверного учета результатов через 3 ч инкубации образцов. Разработанный метод позволяет исключить

привлечение добровольцев для таких исследований. Данный экспресс-метод может быть использован для быстрой оценки антимикробной активности и рекомендован для анализа большого объема образцов, в частности, при поиске или синтезе новых активных ингредиентов-биоцидов и при массовом тестировании косметических средств против запаха пота.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пенкина Ю.А., Барабаи Д.В., Буторова И.А. Выбор и обоснование методов оценки потребительских свойств косметической продукции по показателям дезодорирующее и антиперспирирующее действие. *Биотехнология*, 2021, 37(2), 54–64. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2021-37-2-66-76>
2. Teerasumran P., Velliou E., Bai S., Cai Q. Deodorants and antiperspirants: New trends in their active agents and testing methods. *Int. J. Cosmet. Sci.*, 2023, 45(4), 426–443. <https://doi.org/10.1111/ics.12852>
3. Welzel J., Grödl S., Welss T., Claas M., Sättler A., Förster T., Banowski B. Quantitative ion determination in eccrine sweat gland cells correlates to sweat reduction of antiperspirant actives. *Int. J. Cosmet. Sci.*, 2021, 43(2), 181–190. <https://doi.org/10.1111/ics.12679>
4. Subhash H.M., Ofoegbuna T., Oliveira A.H., Pierce M.C., Pillai S. Infrared thermal imaging for assessing human

- perspiration and evaluating antiperspirant product efficacy. *Sci. Rep.*, 2024, 14(1), 24994. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-73878-8>
5. *Colleran A., Lima C., Xu Y., Millichope A., Stephanie S., Goodacre R.* Using surface-enhanced Raman scattering for simultaneous multiplex detection and quantification of thiols associated to axillary malodour. *Analyst*, 2024, 149(15), 3989–4001. <https://doi.org/10.1039/d4an00762j>
  6. *Moonen J.M., Islam T.U., van Kemenade S., Pelssers E., Heikensfeld J., den Toonder J.M.J.* A versatile artificial skin platform for sweat sensor development. *Lab Chip.*, 2023, 23(9), 2268–2275. <https://doi.org/10.1039/d3lc00109a>
  7. *Trocacaz M., Gaia M., Beccucci S., Schrenzel J., Cayeux I., Starkenmann C., Lazarevich V.* Mapping axillary microbiota responsible for body odors using a culture-independent approach. *Microbiome*, 2015, 3, 3. <https://doi.org/10.1186/s40168-014-0064-3>
  8. *Barzantny H., Brune I., Tauch A.* Molecular basis of human body odour formation: insights deduced from cornebacterial genome sequences. *Int. J. Cosmet. Sci.*, 2012, 34, 2–11. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2011.00669.x>
  9. *Calewaert C., Kerckhof F.-M., Granitsiotis M. S., Van Gele M., Van de Wiele T., Boon N.* Characterization of Staphylococcus and Corynebacterium clusters in the human axillary region. *PloS One*, 2013, 8(8), e70538. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070538>
  10. *Борисова О.Ю., Алешкин А.В., Гадуа Н.Т., Бочкарева С.С., Ефимов Б.А., Чернова В.А., Алешкин В.А., Кафарская Л.И., Афанасьев С.С., Воропаева Е.А., Рубальский Е.О., Афанасьев М.С., Караулов А.В.* Количественный и качественный состав микробиоты подмышечных впадин у практически здоровых лиц. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*, 2015, 2, 17–24.
  11. МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 91 с.
  12. *Быкова С.П.* Применение экспресс-метода для контроля работы биологических очистных сооружений. *Санитарный врач*, 2008, 7, 57–58.
  13. *Horváth G., Jámboor N., Végh A., Böszörményi A., Lemberkovics E., Héthelyi É., Kovács K., Kocsis K.* Antimicrobial activity of essential oils: the possibilities of TLC-bioautography. *Flavour Fragr. J.*, 2010, 25(3), 178–182. <https://doi.org/10.1002/ffj.1993>
  14. *Mehrabani M., Kazemi A., Ayatollahi Mousavi S.A., Rezaifar M., Alikhah H., Nosky A.* Evaluation of antifungal activities of Myrtus communis L. by bioautography method. *Jundishapur J. Microbiol.*, 2013, 6(8), e8316. <https://doi.org/10.5812/jjm.8316>
  15. *Галынкин В.А., Кочеровец В.И., Габидова А.Э.* Фармацевтическая микробиология. 2 издание, дополненное и переработанное. М.: Арнебия. 2015, 240 с.
  16. *Перт С.Дж.* Основы культивирования микроорганизмов и клеток. Пер. с англ. Т. Петровой, И. Позмоговой. М.: Мир, 1978, 336 с.
  17. ОФС.1.2.4.0002.18 “Микробиологическая чистота”. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIV издание, 2018, т. 1, 1128–1200. <https://femb.ru/record/pharmacopea14>, <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/1135/>.

## Selection and Substantiation of Methods for Evaluating Cosmetic Products for Deodorant and Antiperspirant Action. Part 2. Development of an Express Method for Evaluation of Intrinsic Antimicrobial Activity of Products

Yu. A. Penkina<sup>a, #</sup>, V. R. Normatova<sup>a</sup>, T. T. N. Kha<sup>a</sup>, and I. A. Butorova<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*D. I. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, 125480 Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: yu.a.penkina@gmail.com*

**Abstract**—The intrinsic antimicrobial activity of personal care products for neutralizing the sweat odour is an obligatory part of their functional properties. To evaluate this characteristic, two bacterial strains typical for the armpit area were selected as test microorganisms: *Corynebacterium stationis* VKPM-V-10645 and *Micrococcus luteus* VKPM-V-7845, which showed sensitivity to all tested commercially available samples of deodorants/antiperspirants. An express method (the method of “fast” microbiology) using a 0.03% aqueous solution of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) was developed. The experimental conditions were determined: the test strains inoculate amount added into the reaction medium, as well as the product amount and conditions of its adding for the reaction medium and the analysis of the results obtained after 3 hours of incubation of the samples. This express method can be used for the fast antimicrobial activity evaluation and recommended for the testing of the great samples amount particularly while searching or synthesis of the new biocides and the large-scale testing of personal care products for neutralizing the sweat odour.

**Keywords:** antimicrobial action, express method, 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC), disc diffusion method, deodorant, antiperspirant, cosmetic, efficiency, consumer properties, application properties