

ДОСЛІДЖЕННЯ СТАБІЛЬНОСТІ М'ЯКОГО ПРЕПАРАТУ ДЛЯ НАШКІРНОГО ЗАСТОСУВАННЯ «ПРОБІОСКІН» У ПРОЦЕСІ ЗБЕРІГАННЯ

Соловійова А.В., Калюжная О.С.

Національний фармацевтичний університет
України

Вступ. Важливою проблемою сучасної медицини та фармації залишається лікування дерматологічних захворювань шкіри. Шкіра постійно піддається впливу різних ендогенних і екзогенних факторів, що призводить до розбалансування системи взаємодії мікрофлори та тканин людини. Це може бути причиною запальних станів шкіри, інфекційних або алергічних захворювань [1, 2]. Причому, порушення мікробіому шкіри може бути як наслідком інфекційних та запальних дерматозів та їх лікування антимікробними засобами, так і причиною через зниження мікробіому шкірної екосистеми, що призводить до активації умовно-патогенних мікроорганізмів і, відповідно, до виникнення інфекційного захворювання.

У сучасній дерматологічній практиці при лікуванні дерматологічних захворювань зазвичай не враховують причини та наслідки порушення мікробіому шкіри, широко використовують антимікробні та протизапальні засоби, лікування якими може бути тривалим, часто не ефективним, із частими рецидивами [3, 4]. На даний час на вітчизняному фармацевтичному ринку не існує засобів для лікування дерматологічних захворювань з одночасною корекцією та підтримкою мікробіому шкіри у вигляді м'якої лікарської форми.

Враховуючи вищенаведене, на кафедрі біотехнології НФаУ розроблено комбінований препарат із пробіотичним компонентом для лікування дерматологічних захворювань у формі емульгелю під умовною назвою «Пробіоскін» з протизапальною, антимікробною, регенеруючою, пом'якшувальною дією. Емульгель «Пробіоскін» виготовлений на основі структуроутворювача Aristoflex AVC і містить у своєму складі лактобактерії, декспантенол та кислоту молочну [5, 6].

Розроблення нового лікарського засобу потребує дослідження стабільності його зразків у процесі зберігання шляхом оцінки всіх закладених до проекту МКЯ показників якості. При цьому уточнюються умови зберігання і термін придатності.

Метою роботи було дослідження стабільності емульгелю «Пробіоскін» у процесі зберігання.

Матеріали та методи

Об'єкти дослідження - зразки емульгелю «Пробіоскін» у тубі №1 по 30 г, які були закладені на зберігання у сухому захищеному від світла місці при наступних температурних режимах: від +15 °C до +25 °C (кімнатна температура) та від +8 °C до +15 °C (прохолодне місце) протягом 18 міс; також через наявність у складі препарату пробіотичного

компоненту було обрано третій режим - від +2° до +8° C (умови холодильника).

Відповідно до фармакопейних вимог до специфікації на препарат «Пробіоскін» включені наступні розділи: «Опис», «Ідентифікація», «рН», «Однорідність», «Маса вмісту упаковки», «Мікробіологічна чистота», «Кількісне визначення». Специфікація і аналітичні методики розроблено у відповідності з вимогами монографії на дозовані форми ДФУ 2.4 «М'які препарати для нашкірного застосування», загальної монографії ДФУ 2.5 «Живі біотерапевтичні лікарські засоби для застосування людиною» [7, 8].

Ідентифікацію та визначення кількісного вмісту декспантенолу у складі препарату здійснювали методом рідинної хроматографії з мас-спектрометрією. На хроматограмах випробуваного розчину, отриманих при кількісному визначенні декспантенолу, час утримання основного піку має співпадати з часом утримування цього піка на хроматограмі розчину порівняння. Придатність хроматографічної системи визначали за ефективністю хроматографічної колонки, симетрією піків і відтворюваністю площ піків декспантенолу на хроматограмах розчину порівняння. Методика кількісного визначення декспантенолу при проведенні тесту «Кількісне визначення. Декспантенол» в препараті «Пробіоскін» методом ВЕРХ-МС в діапазоні застосування відповідала критеріям прийнятності для валідаційних характеристик: специфічність, правильність, прецизійність (збіжність) і лінійність. Повна прогнозована невизначеність результатів аналізу декспантенолу не перевищувала критичне значення. Ідентифікацію молочної кислоти проводили за допомогою характерних реакцій на лактат-іон (тест на лактати відповідно до вимог ДФУ, 2.3.1 та тесту на лактат-іон за допомогою методу, який заснований на взаємодії молочної кислоти і окислювача в кислому середовищі). Визначення кількісного вмісту молочної кислоти проводили методом кислотно-основного титрування. З цією метою використовували метод зворотного титрування, рекомендований Європейською фармакопеєю для кількісної оцінки молочної кислоти. Методика кількісного визначення молочної кислоти при проведенні тесту «Кількісне визначення. Молочна кислота» в препараті «Пробіоскін» методом кислотно-основного титрування підтверджувалась в усьому діапазоні концентрацій і відповідала критеріям прийнятності для валідаційних характеристик: специфічність, правильність, прецизійність (збіжність) і лінійність. Повна прогнозована невизначеність результатів аналізу молочної кислоти не перевищувала критичне значення. Розробку методик контролю якості проводили на базі Навчально-наукового тренінгового центру хіміко-технологічних досліджень НФаУ.

Ідентифікацію лактобактерій проводили мікробіологічними методами на основі сукупності макроскопічних та мікроскопічних властивостей. Бактеріоскопічний контроль проводили шляхом прогляду мазків, приготованих із зразків розчиненого препарату та пофарбованих за Грамом.

Бактеріологічний контроль – шляхом висівання на густе середовище МРС-4 та рідке середовище МРС-1. Кількість живих лактобактерій визначали методом поверхневого висівання на чашки Петрі із густим середовищем МРС-4, через 48 год інкубації при температурі $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ підраховували колонії, що виростили на поверхні середовища, та обчислювали число живих лактобактерій, виражене в КУО, в 1 мл препарату.

Мікробіологічні випробування щодо визначення числа забруднювальних мікроорганізмів проводили згідно ДФУ 2.5 статі 2.6.36, щодо випробування на окремі види мікроорганізмів - згідно ДФУ 2.5 статті 2.6.38 методом поверхневого висівання [8]. Антимікробну активність препарату усували шляхом збільшення об'єму розріджувача. Для визначення числа забруднювальних аеробних мікроорганізмів (АМСС) використовували густе живильне середовище без цукру (живильний агар з 9 % натрію хлориду), на якому протягом інкубування в аеробних умовах за температури від 30°C до 35°C 72 год лактобактерії зростають повільно як крихітні колонії, що дозволяє легко виявити забруднювальні мікроорганізми, які характеризуються більшою швидкістю зростання та крупнішими колоніями. Для визначення числа забруднювальних дріжджових і плісневих грибів (УМСС) використовували Сабуро-декстрозний агар з хлорамфеніколом для пригнічення зростання бактерій. Для випробування на окремі види мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* та *Pseudomonas aeruginosa* використовували манітно-сольовий агар та цетримідний агар відповідно. Важливість випробування на наявність саме даних видів мікроорганізмів оцінювали з урахуванням застосування препарату (м'який препарат для на шкірного застосування).

Статистичну обробку результатів фармако-технологічних, фізико-хімічних та мікробіологічних досліджень проводили згідно вимог ДФУ.

Результати та обговорення

Показники якості емульгелю «Пробіоскін» наведені в специфікації таблиці 1.

З метою вивчення стабільності препарату, встановлення умов зберігання і терміну придатності нами було виготовлено та закладено на зберігання декілька серій препарату. Дослідження на відповідність вимогам проєкту МКЯ проводили кожні 3 місяці. Результати аналізу емульгелю «Пробіоскін» наведено у таблицях 2, 3, 4.

Визначення показників якості зразків препарату протягом 18 міс при всіх температурних режимах зберігання показало невідповідність одному або декільком показникам. Так, на 18 міс дослідження при зберіганні при кімнатній температурі зразки не відповідали проєкту МКЯ за показником «Мікробіологічна чистота» та «Кількісне визначення лактобактерій», а при зберіганні в прохолодному місці та в умовах холодильника зразки не витримували дослідження за показником «Кількісне визначення лактобактерій». Таким чином, терміном зберігання емульгелю «Пробіоскін» є 12 міс, що є

загальноприйнятним для препаратів, які містять живі мікроорганізми.

Також, аналізуючи результати визначення показників при кімнатній температурі, на 12 міс спостереження бачимо нижчу за допустиму норму кількість лактобактерій, а порівнюючи показник рН при зберіганні зразків в умовах холодильника та в прохолодному місці спостерігаємо дещо вищі показники для останнього випадку, але в межах допустимої норми.

Таким чином, рекомендованим терміном зберігання емульгелю «Пробіоскін» є 12 міс при температурах від $+8^\circ\text{C}$ до $+15^\circ\text{C}$ або від $+2^\circ\text{C}$ до $+8^\circ\text{C}$, але враховуючи наявність живих мікроорганізмів у складі препарату та результати наших досліджень зберігання в умовах холодильника є пріоритетним. Для даних умов показники якості препарату протягом 12 міс спостереження не змінювались у порівнянні з результатами на момент виготовлення. Це свідчить про раціонально обґрунтований склад препарату та його технологію виробництва.

Висновки

1. Виокремлено у специфікацію емульгелю «Пробіоскін» наступні показники якості препарату: опис, ідентифікація декспантенолу, молочної кислоти, лактобактерій, рН, однорідність, маса вмісту упаковки, мікробіологічна чистота, кількісне визначення декспантенолу, молочної кислоти, лактобактерій.
2. Проведено дослідження стабільності емульгелю «Пробіоскін» у процесі зберігання при наступних температурних режимах: від $+15^\circ\text{C}$ до $+25^\circ\text{C}$, від $+8^\circ\text{C}$ до $+15^\circ\text{C}$, від $+2^\circ\text{C}$ до $+8^\circ\text{C}$.
3. Доведено, що препарат є стабільним при зберіганні при температурах від $+8^\circ\text{C}$ до $+15^\circ\text{C}$ та від $+2^\circ\text{C}$ до $+8^\circ\text{C}$ протягом 12 місяців.

Study of stability of semi-solid drug "Probioskin" for skin application in the process of storage Soloviova A.V., Kaliuzhnaia O.S.

Introduction. Currently, there are no means for the treatment of dermatological diseases in the domestic pharmaceutical market with the simultaneous correction and maintenance of the skin microbiome. We have developed a combined preparation with a probiotic component for the treatment of dermatological diseases in the form of an emulsion under the conditional name "Probioskin" with anti-inflammatory, antimicrobial, regenerating, emollient action. The development of a new medicinal product requires a study of the stability of its samples during storage by assessing all the quality indicators included in the ICU project. At the same time storage conditions and expiration date are specified. The aim of the study was to investigate the stability of Probioskin emulsifier during storage. **Materials and methods.** Objects of research - samples of emulgel "Probioskin" in a tube №1 of 30 g, which were placed for storage in a dry place protected from light at the following temperatures: from $+15^\circ\text{C}$ to $+25^\circ\text{C}$ (room temperature) and from $+8^\circ\text{C}$ to $+15^\circ\text{C}$ (cool place) for 18 months; also due to the presence of probiotic component in the drug, the third mode was chosen - from $+2^\circ\text{C}$ to $+8^\circ\text{C}$

(refrigerator conditions). Identification and quantification of dexpanthenol in the preparation was performed by liquid chromatography with mass spectrometry. On the chromatograms of the test solution obtained by quantification of dexpanthenol, the retention time of the main peak should coincide with the retention time of this peak on the chromatogram of the reference solution. Identification of lactic acid was performed using characteristic reactions to lactate ion (lactate test in accordance with the requirements of SPU, 2.3.1 and lactate ion test using a method based on the interaction of lactic acid and oxidant in an acidic environment).

Determination of the quantitative content of lactic acid was performed by the method of acid-base titration. For this purpose, the back titration method recommended by the European Pharmacopoeia for the quantification of lactic acid was used. Identification of lactobacilli was performed by microbiological methods based on a combination of macroscopic and microscopic properties. Bacterioscopic control was performed by viewing smears prepared from samples of dissolved drug and Gram-stained. Bacteriological control - by sowing on a thick medium MRS-4 and liquid medium MRS-1. The number of live lactobacilli was determined by surface seeding on Petri dishes with dense MRS-4 medium, after 48 h of incubation at a temperature of $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$, colonies grown on the surface of the medium were counted and the number of live lactobacilli expressed in CFU was calculated in 1 ml of the preparation. Microbiological tests to determine the number of contaminating microorganisms were performed according to SPU.

Results and discussion. In order to study the stability of the drug, to establish storage conditions and shelf life, we have produced and put into storage several batches of the drug. Surveys on compliance with the requirements of the QCM project were conducted every 3 months. The results of the analysis of the emulgel "Probioskin" are shown in tables 2, 3, 4. Determination of quality indicators of drug samples for 18 months at all storage temperatures showed non-compliance with one or more indicators. Thus, the recommended shelf life of Probioskin emulsifier is 12 months at temperatures from $+8^\circ\text{C}$ to $+15^\circ\text{C}$ or from $+2^\circ$ to $+8^\circ\text{C}$, but taking into account the presence of live microorganisms in the drug and the results of our storage studies in refrigerator conditions are a priority. For these conditions, the quality of the drug during 12 months of observation did not change compared with the results at the time of manufacture. This indicates a rationally justified composition of the drug and its production technology. **Conclusion.** The following quality indicators of the drug are selected in the specification of Probioskin emulsifier: description, identification of dexpanthenol, lactic acid, lactobacilli, pH, homogeneity, weight of

packaging, microbiological purity, quantitative determination of dexpanthenol, lactic acid, lactobacilli. A study of the stability of the emulsion "Probioskin" during storage at the following temperatures: from $+15^\circ\text{C}$ to $+25^\circ\text{C}$, from $+8^\circ\text{C}$ to $+15^\circ\text{C}$, from $+2^\circ$ to $+8^\circ\text{C}$. It is proved that the drug is stable during storage at temperatures from $+8^\circ\text{C}$ to $+15^\circ\text{C}$ and from $+2^\circ\text{C}$ to $+8^\circ\text{C}$ for 12 months.

Keywords: skin microbiome, probiotics, dermatological diseases, semisolid dosage form, emulgel.

References

1. Byrd A.L., Belkaid Y., Segre J.A. The human skin microbiome. *Nat Rev Microbiol.* 2018. 16. P. 143-155. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.157>.
2. Dreno B., Araviiskaia E., Berardesca E., Gontijo G., Sanchez Viera M., Xiang L., Bieber T. Microbiome in healthy skin, update for dermatologists. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2018. 12. P. 2038 – 2047. doi: 10.1111/jdv.13965.
3. Tkachenko N., Chagarovskyi O., Dets, N., Sevastyanova E., Lanzhenko L. «Living» and «probiotic» cosmetics: modern view and definitions. *Food Science and Technology.* 2017. 11(4). P. 1-12. doi:10.15673/fst.v11i4.735.
4. Acne. Evidence-based clinical guideline. State expert center of the Ministry of Health of Ukraine. 2017. 101.
5. Soloviova A., Kaliuzhnaia O., Strelnikov L. Primary selection of the prebiotic components in the complex dermatological therapeutic and preventive medicine with probiotic. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science».* 2020. 2 (24). P. 33-39. doi:10.15587/2519-4852.2020.201104.
6. Soloviova A., Kukhtenko H., Kaliuzhnaia O. Substantiation of the composition of a semi-solid dosage form with a probiotic component for use in dermatology. *Scientific Journal «Eureka: Health Sciences».* 2021. 6. P. 54-63. doi: 10.21303/2504-5679.2021.002181
7. State Pharmacopoeia of Ukraine / State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Centre for Quality of Medicines». 2-nd edition. Addition 4. Kharkiv: State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Centre for Quality of Medicines». 2020. 600 p.
8. State Pharmacopoeia of Ukraine / State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Centre for Quality of Medicines». 2-nd edition. Addition 5. Kharkiv: State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Centre for Quality of Medicines». 2021. 424 p.

Таблиця 1. Специфікація емульгелю «Пробіоскін»

Показники	Допустимі норми	Методи контролю
Опис	Крем білого кольору.	За п. 1 МКЯ Візуально
Ідентифікація - Декспантенол - Молочна кислота - Лактобактерії (<i>Lactobacillus fermentum</i> та/або <i>Lactobacillus plantarum</i>)	На хроматограмах випробуваного розчину, отриманих в розділі «Кількісне визначення. Декспантенол», час утримання основного піку декспантенолу має співпадати з часом утримання цього піку на хроматограмі розчину порівняння. Характерні реакції на лактати. У мазках, пофарбованих за Грамом, мають знаходитись грампозитивні палички, характерні для лактобактерій. На густому середовищі МРС-4 мають вирости колонії слабоопуклі, напівпрозорі, сіруваті (<i>L. fermentum</i>) та/або опуклі, непрозорі білі (<i>L. plantarum</i>), на рідкому середовищі МРС-1 - у вигляді рівномірної каламуті та гомогенного білого осаду на дні пробірки.	За п. 2.1, 7.1 МКЯ, ДФУ, 2.2.29, 2.2.43 (метод рідинної хроматографії з мас-спектрометрією) За п. 2.2 МКЯ, ДФУ, 2.3.1 За п. 2.3.1, 2.3.2 МКЯ,
<u>pH</u>	Від 4,0 до 5,0.	За п. 3 МКЯ ДФУ, 2.2.3
Однорідність	Препарат має бути однорідним.	За п. 4 МКЯ Візуально
Маса вмісту упаковки	Маса вмісту кожної туби має бути не менше 30,0 г.	За п. 5 МКЯ
Мікробіологічна чистота	Число забруднювальних аеробних мікроорганізмів (АМСС) – 10^2 КУО/г. Число забруднювальних дріжджових і плісневих грибів (УМСС) - 10^1 КУО/г. Не допускається наявність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г. Не допускається наявність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г.	За п. 6 МКЯ ДФУ, 2.6.36, 2.6.38
Кількісне визначення - Декспантенол ($C_9H_{19}NO_4$) - Молочна кислота ($C_3H_6O_3$) - Лактобактерії	В 1 г препарату: Від 36,0 мг до 44,0 мг (від 90 % до 110 % від заявленого вмісту). Від 7,2 мг до 8,8 мг (від 90 % до 110 % від заявленого вмісту). Загальна кількість клітин на кінець терміну придатності - не менше $1 \cdot 10^9$ КУО.	За п. 7.1 МКЯ, ДФУ, 2.2.29, 2.2.43, 2.2.46 (метод рідинної хроматографії з мас-спектрометрією) За п. 7.2 МКЯ (метод кислотно-основного титрування) За п. 7.3 МКЯ (метод поверхневого висівання)

Таблиця 2. Результати дослідження емульгелю «Пробіоскін» у процесі зберігання (температура зберігання від +15 °С до +25 °С)

Найменування показників за МКЯ	Термін зберігання, міс						
	поч.	3	6	9	12	15	18
Опис	Однорідна гелеподібна маса білого кольору						
Ідентифікація:							
- Декспантенол	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
- Кислота молочна	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
- Лактобактерії (<i>Lactobacillus fermentum</i> та/ <i>Lactobacillus plantarum</i>)	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
pH	4,37±0,03	4,45±0,05	4,48±0,05	4,64±0,03	4,75±0,05	4,73±0,05	4,89±0,03
Однорідність	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Маса вмісту упаковки, г	30,8±0,2	31,2±0,4	30,7±0,4	32,2±0,5	31,5±0,4	31,5±0,2	32,0±0,5
Мікробіологічна чистота	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Не відповідає за показником УМСС
Кількісне визначення в 1 г препарату:							
- Декспантенол, мг	41,5±0,3	38,2±0,1	40,1±0,2	37,2±0,2	38,6±0,3	42,4±0,3	38,3±0,4
- Кислота молочна, мг	8,2±0,2	8,4±0,2	8,3±0,1	8,3±0,1	8,0±0,2	7,6±0,2	7,5±0,1
- Лактобактерії, КУО	2,10·10 ⁹	1,92·10 ⁹	1,35·10 ⁹	1,05·10 ⁹	0,87·10 ⁹	0,21·10 ⁹	0,02·10 ⁹

Таблиця 3. Результати дослідження емульгелю «Пробіоскін» у процесі зберігання (температура зберігання від від +8 °С до +15 °С)

Найменування показників за МКЯ	Термін зберігання, міс						
	поч.	3	6	9	12	15	18
Опис	Однорідна гелеподібна маса білого кольору						
Ідентифікація:							
- Декспантенол	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
- Кислота молочна	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
- Лактобактерії (<i>Lactobacillus fermentum</i> та/ <i>Lactobacillus plantarum</i>)	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
pH	4,38±0,04	4,25±0,05	4,36±0,04	4,56±0,05	4,62±0,05	4,60±0,04	4,82±0,03
Однорідність	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Маса вмісту упаковки, г	31,2±0,4	30,9±0,5	32,2±0,5	30,7±0,3	31,1±0,4	32,0±0,4	31,8±0,5
Мікробіологічна чистота	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Кількісне визначення в 1 г препарату:							
- Декспантенол, мг	41,5±0,4	41,0±0,2	41,3±0,1	38,5±0,2	38,6±0,1	42,0±0,1	38,5±0,2
- Кислота молочна, мг	7,7±0,1	7,9±0,2	8,0±0,1	8,3±0,2	7,8±0,2	7,6±0,1	7,4±0,1
- Лактобактерії, КУО	2,08·10 ⁹	1,95·10 ⁹	1,42·10 ⁹	1,51·10 ⁹	1,50·10 ⁹	1,21·10 ⁹	0,91·10 ⁹

Таблиця 4. Результати дослідження емульгелю «Пробіоскін» у процесі зберігання (температура зберігання від +2° до +8° С)

Найменування показників за МКЯ	Термін зберігання, міс						
	поч.	3	6	9	12	15	18
Опис	Однорідна гелеподібна маса білого кольору						
Ідентифікація:							
- Декспантенол	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
- Кислота молочна	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
- Лактобактерії (<i>Lactobacillus fermentum</i> та/а <i>Lactobacillus plantarum</i>)	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
pH	4,21±0,03	4,20±0,05	4,32±0,03	4,34±0,05	4,32±0,04	4,39±0,05	4,44±0,05
Однорідність	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Маса вмісту упаковки, г	32,0±0,1	31,5±0,5	31,7±0,4	31,5±0,3	31,0±0,3	30,8±0,5	31,4±0,5
Мікробіологічна чистота	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Кількісне визначення в 1 г препарату:							
- Декспантенол, мг	38,4±0,4	38,6±0,1	38,9±0,4	39,1±0,2	38,2±0,4	39,8±0,1	38,0±0,3
- Кислота молочна, мг	7,9±0,1	8,0±0,2	8,1±0,1	7,9±0,2	8,2±0,1	8,0±0,1	8,4±0,2
- Лактобактерії, КУО	2,05·10 ⁹	2,01·10 ⁹	1,78·10 ⁹	1,75·10 ⁹	1,38·10 ⁹	1,40·10 ⁹	0,98·10 ⁹