



STUDY OF MICROBIOLOGICAL PURITY OF A SUBSTANCE WITH ZINC OXIDE NANOPARTICLES

Alimjanova Lola Iskandarovna

Tashkent Pharmaceutical Institute. e-mail: shahiab9999@gmail.com

ORCID:<https://orcid.org/0009-0004-9460-5146>

Shermatova Iroda Bakhtiyor qizi

Tashkent Pharmaceutical Institute. e-mail: iroda.shermatova.94@mail.ru

ORCID:<https://orcid.org/0009-0002-5286-2908>

Khusniddinova Azizakhon Ravshan qizi

Tashkent Pharmaceutical Institute. e-mail: khusniddinova05@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0005-9240-0160>

Safokulov Bobur Ikrom ugli

Tashkent Pharmaceutical Institute. e-mail: bobur2004@icloud.com

ORCID:<https://orcid.org/0009-0007-4726-6147>

<https://doi.org/10.5281/zenodo.16946754>

ARTICLE INFO

Received: 18th August 2025

Accepted: 25th August 2025

Online: 26th August 2025

KEYWORDS

Zinc oxide nanoparticles, extract, microbiological purity, herbal medicinal product, *Scutellaria Iscandaria L.*, antimicrobial properties, substance, nanotechnology, pharmaceutical analysis.

ABSTRACT

Nanotechnology is playing an increasingly significant role in modern medicine, offering broad prospects for the development of innovative medicinal products with high biological activity and targeted action. One of the most promising directions is the use of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs), which possess pronounced antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant, and wound-healing properties. However, the introduction of such nanomaterials into clinical practice requires a thorough and comprehensive evaluation of their quality and safety. Particular attention in the development of substances containing zinc oxide nanoparticles should be paid to microbiological purity, since the presence of contaminants — especially pathogenic and opportunistic microorganisms — may not only reduce the effectiveness of the drug but also pose a direct threat to the patient's health. The assessment of microbiological purity is a key stage in the validation of pharmaceutical substances, allowing the confirmation of compliance with the requirements of regulatory documentation.

*This study presents the results of a microbiological purity analysis of the substance "Dry Extract of *Scutellaria Iscandaria* Herb with Zinc Oxide Nanoparticles" in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of the Republic of Uzbekistan, XI edition, volume 2, p. 193, as well as Amendment No. 2 dated 29.09.2005, category No. 3.2. The obtained data are an important component in the development of safety and efficacy standards for herbal preparations with nanocomponents and contribute to the further scientific and practical justification for the application of nanotechnology in the pharmaceutical field.*

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ СУБСТАНЦИИ С НАНОЧАСТИЦАМИ ОКСИДА ЦИНКА

Алимджанова Лола Искандаровна

Ташкентский Фармацевтический институт. e-mail: shahiab9999@gmail.com



ORCID:<https://orcid.org/0009-0004-9460-5146>

Шерматова Ирода Бахтиёр қизи

Ташкентский Фармацевтический институт. e-mail: iroda.shermatova.94@mail.ru

ORCID:<https://orcid.org/0009-0002-5286-2908>

Хусниддинова Азизахон Равшан қизи

Ташкентский Фармацевтический институт/ e-mail: khusniddinova05@gmail.com

ORCID:<https://orcid.org/0009-0005-9240-0160>

Сафокулов Бобур Икром ўғли

Ташкентский Фармацевтический институт. e-mail: bobur2004@icloud.com

ORCID:<https://orcid.org/0009-0007-4726-6147>

<https://doi.org/10.5281/zenodo.16946754>

ARTICLE INFO

Received: 18th August 2025

Accepted: 25th August 2025

Online: 26th August 2025

KEYWORDS

Наночастицы оксида цинка, экстракт, микробиологическая чистота, фитопрепарат, Шлемник Искандарии (*Scutellaria Iscandaria L.*), антимикробные свойства, субстанция, микробиологическая чистота, нанотехнологии, фармацевтический анализ.

ABSTRACT

Нанотехнологии занимают всё более значимое место в современной медицине, открывая широкие перспективы для создания инновационных лекарственных средств с высокой биологической активностью и целенаправленным действием. Одним из наиболее перспективных направлений является использование наночастиц оксида цинка (ZnO-NPs), обладающих выраженными антимикробными, противовоспалительными, антиоксидантными и ранозаживляющими свойствами. Однако внедрение подобных наноматериалов в клиническую практику требует предварительной и всесторонней оценки их качества и безопасности. Особое внимание при разработке субстанций с наночастицами оксида цинка следует уделять микробиологической чистоте, поскольку наличие контаминантов — особенно патогенных и условно-патогенных микроорганизмов — может не только снижать эффективность препарата, но и представлять прямую угрозу здоровью пациента. Оценка микробиологической чистоты является ключевым этапом валидации фармацевтических субстанций, позволяя установить соответствие требованиям нормативной документации. В данной работе представлены результаты анализа микробиологической чистоты субстанции «Сухой экстракт травы Шлемник Искандарии с наночастицами оксида цинка» в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Республики Узбекистан XI издания, выпуск 2, стр. 193, а также в соответствии с Изменением №2 от 29.09.2005 г., категория №3.2. Полученные данные являются важной составляющей в разработке стандартов безопасности и эффективности для фитопрепаратов с наноконпонентами, а также способствуют дальнейшему научному и практическому обоснованию применения нанотехнологий в фармацевтической отрасли.

Введение. Наномедицина представляет собой одну из наиболее динамично развивающихся отраслей современной науки, предлагая инновационные подходы к



диагностике, профилактике и лечению широкого спектра заболеваний. Ключевым понятием данной области является «нано» — термин, обозначающий структуры и частицы размером от 1 до 100 нанометров. В этом масштабе вещества приобретают уникальные физико-химические и биологические свойства, которые невозможно наблюдать в макро- или микромасштабе [2].

Среди различных типов наноматериалов особое внимание в последние годы привлекают наночастицы оксида цинка (ZnO-NPs). Благодаря своим выраженным антимикробным, противовоспалительным, антиоксидантным и фотокаталитическим свойствам, наночастицы ZnO рассматриваются как перспективные агенты для включения в состав лекарственных форм, особенно в дерматологии, стоматологии и антисептических средствах [1]. Эти наноструктуры обладают высокой биосовместимостью и большой удельной поверхностью, что позволяет эффективно модифицировать их поверхности с целью увеличения терапевтического потенциала и таргетной доставки активных веществ [3]. Несмотря на выраженные терапевтические преимущества и высокий потенциал наночастиц оксида цинка, их включение в состав фармацевтических субстанций требует строгой и всесторонней оценки качества, с акцентом на безопасность применения. Одним из ключевых этапов доклинической экспертизы является анализ микробиологической чистоты, поскольку микробная контаминация может существенно влиять не только на стабильность и срок хранения препарата, но и на его фармакодинамические и фармакокинетические свойства [5]. Более того, наличие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в составе лекарственного средства способно привести к серьёзным инфекционным осложнениям, особенно у пациентов с ослабленной иммунной системой. Особенно актуальной данная проблема становится в контексте разработки комбинированных лекарственных субстанций растительного происхождения, содержащих наночастицы [4]. Растительное сырьё само по себе является благоприятной средой для развития микрофлоры, а сочетание его с наноструктурированными компонентами, обладающими повышенной поверхностной активностью, может дополнительно способствовать адсорбции и удержанию загрязняющих агентов [6]. В связи с этим контроль микробиологической чистоты таких субстанций должен осуществляться строго в соответствии с требованиями действующих фармакопейных стандартов, что обеспечивает не только их безопасность, но и эффективность при дальнейшем медицинском применении.

В данном исследовании рассматривается субстанция «Сухой экстракт травы Шлемник Искандарии с наночастицами оксида цинка», оценённая на соответствие требованиям Государственной Фармакопеи Республики Узбекистан по микробиологической чистоте [7,8]. Полученные результаты позволят дать объективную характеристику качественным показателям субстанции и определить её пригодность для использования в составе перспективных лекарственных средств.

Материалы и методы. Объектом настоящего исследования является субстанция «Экстракт травы Шлемника Искандарии сухой с наночастицами оксида цинка», полученная методом «зелёного синтеза» с использованием лекарственного растительного сырья *Scutellaria Iscandari* L.



Используемые питательные среды для микробиологического исследования. Для анализа использовались следующие питательные среды производства компании «HIMEDIA», Индия:

- Среда №1 — сухая, для выращивания аэробных бактерий;
- Среда №2 — агар Сабуро с глюкозой и антибиотиками, сухая, для культивирования дрожжевых и плесневых грибов;
- Среда №3 — сухая, обогащающая среда для энтеробактерий;
- Среда №4 — сухая, для выделения энтеробактерий;
- Среда №8 — сухая, для выращивания бактерий;
- Среда №10 — сухая, для выделения *Staphylococcus aureus* (золотистого стафилококка);
- Среда №11 — сухая, для предварительного обогащения энтеробактерий;
- Среда №12 — сухая, для выделения сальмонелл;
- Среда №13 — сухая, для идентификации сальмонелл;
- Среда №14 — сухая, для идентификации *Escherichia coli*.

Микробиологическая оценка субстанции проводилась в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Республики Узбекистан XI издания, выпуск 2, стр. 193 и изменений №2, регламентирующих критерии микробиологической чистоты лекарственных субстанций.

Результаты и обсуждение. Испытания на микробиологическую чистоту субстанции «Сухой экстракт травы *Scutellaria Iscandari* L. с наночастицами оксида цинка», полученной методом «зелёного синтеза», проводились с целью оценки её соответствия требованиям Государственной Фармакопеи по показателям безопасности. Анализ включал подготовку образцов, отбор проб, количественную оценку жизнеспособных аэробных микроорганизмов, идентификацию дрожжевых и плесневых грибов, а также выявление бактерий, наличие которых в нестерильных лекарственных формах недопустимо. Все этапы исследования проводились в строго асептических условиях во избежание контаминации образцов.

Количественное определение микроорганизмов выполнялось двухслойным методом в чашках Петри. Навеску массой 10 г растворяли в фосфатном буферном растворе с pH 7,0 и доводили объём до 100 мл. По 1 мл полученного раствора вносили в две пробирки с 4 мл среды №1 (для аэробных бактерий), охлаждённой до 45 °С.

Определение количества аэробных мезофильных микроорганизмов. Из предварительно приготовленного раствора исследуемого суппозитория отбирали по 1 мл и вносили в две пробирки, каждая из которых содержала 4 мл среды №1, предварительно охлажденной до 45 °С. После тщательного перемешивания посеы инкубировали при оптимальных температурных условиях для роста аэробной микрофлоры. Колониеобразующие единицы (КОЕ) подсчитывали с последующим расчетом количества аэробных бактерий в 1 г препарата.

Обнаружение *Escherichia coli*. Навеску препарата в количестве, эквивалентном 1 г, разводили стерильным буферным раствором в соотношении 1:10 и переносили 10 мл суспензии в 100 мл жидкой питательной среды №8. После перемешивания культура инкубировалась в течение 18–48 часов. Из инкубированной среды отбирали 1 мл и



вносили в 10 мл среды № 3, затем повторно инкубировали 18–24 часа. При появлении роста (равномерное помутнение) производили пересев на селективную среду № 4. Инкубация продолжалась 18–24 часа.

На среде № 4 рост *E. coli* проявлялся в виде характерных малиновых колоний с металлическим блеском и выраженной зоной окрашивания, не обладающих слизистостью. Подозрительные колонии микроскопировали. При обнаружении грамотрицательных палочек проводили пересев на скошенную питательную среду № 1 с последующей инкубацией в течение 18–24 часов.

Для подтверждения принадлежности выделенных культур к *E. coli* использовали стандартные биохимические тесты. Пересев осуществляли на агар Симмонса (среда № 14), соево-казеиновый бульон (среда № 15), а также проводили тест на активность фермента цитохромоксидазы. Через 18–24 часа инкубации оценивали рост микроорганизмов и изменение среды. Утилизацию цитрата определяли по изменению цвета среды с зеленого на синий (сдвиг pH в щелочную сторону). Наличие индола фиксировали по появлению красного кольца на поверхности бульона после добавления реактива Ковача.

Количественное определение *E.coli* осуществлялось аналогично определению других представителей семейства Enterobacteriaceae. Для этого проводился пересев из предварительно приготовленного гомогената образца (А) в пробирки, содержащие жидкую питательную среду № 3. После инкубации в течение 18–24 часов при температуре 37 °С регистрировалось наличие равномерного помутнения среды. С целью подтверждения наличия *E. coli* из каждой помутневшей пробирки производили пересев бактериологической петлёй на плотную питательную среду № 4, с последующей инкубацией в тех же условиях. Появление типичных колоний *E. coli* — мелких, выпуклых, сероватых, состоящих из грамотрицательных палочек — рассматривалось как положительный результат теста. Отсутствие роста указывало на отрицательный результат.

Выявление бактерий рода *Salmonella*. Для детекции бактерий рода *Salmonella* 10,0 г исследуемого образца инокулировали в 100 мл обогащающей среды № 8. Смесь тщательно перемешивали и инкубировали при температуре 37 °С в течение 18–24 часов. Далее 1 мл инкубированной суспензии переносили в 10 мл среды № 12 для селективного обогащения, затем повторно инкубировали в течение 16–24 часов. После этого осуществляли высев на Висмут-сульфит агар, инкубируя посева в течение 24–48 часов. Характерные черные колонии с металлическим блеском и почернением подложки рассценивались как подозрительные на *Salmonella*. Из таких колоний готовили мазки, окрашивали и микроскопировали. При обнаружении грамотрицательных палочек осуществляли пересев на трехсахарный агар с солями железа (среда № 13) методом нанесения на скошенную часть и уколом в глубину столбика. Через 24 часа инкубации наблюдали изменение окраски среды и возможное почернение как маркер образования сероводорода. Дополнительно проводился тест на цитохромоксидазную активность с использованием культуры со среды № 1. При необходимости применялись биохимические и серологические подтверждающие тесты.



Выявление *Staphylococcus aureus*. Исследуемый образец разводили стерильным буферным раствором (1:10) и переносили в объёме 10 мл (эквивалентно 1 г образца) в 100 мл жидкой среды № 8. После инкубации в течение 24–48 часов осуществлялся пересев на селективную среду № 10, с последующей инкубацией в аналогичных условиях. Появление золотисто-жёлтых колоний, окружённых желтыми зонами, свидетельствовало о наличии *S. aureus*. Подтверждение вида могло включать дополнительные тесты при необходимости.

Результаты микробиологической оценки субстанции «Экстракт травы Шлемник Искандарии сухой с наночастицами оксида цинка» приведены в таблице 1.

Таблица 1.

Результаты исследования микробиологической чистоты

Требования НД	Результаты испытаний
Общее число аэробных бактерий не более 10^4 КОЕ/г (колонии образующие единицы в 1 грамме)	Менее 10 КОЕ
Общее число грибов не более 200 в 1 г	Менее 10 КОЕ
Отсутствие <i>Escherichia coli</i> в 1 г.	Отсутствует
Энтеробактерий, и других гр – бактерий не более 100 в 1 г	Отсутствует
Отсутствие <i>Ps.aeruginosa</i> в 1 г.	Отсутствует
Отсутствие <i>Salmonella</i> в 10 г	Отсутствует
<i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г	Отсутствует

Заключение. Проведённые испытания соответствуют установленным требованиям нормативной документации по микробиологической чистоте. Общее количество аэробных бактерий и грибов значительно ниже предельно допустимого уровня, что указывает на высокую степень микробиологической чистоты образца. Патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, включая *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, а также представители семейства *Enterobacteriaceae*, в исследуемом образце не обнаружены. Полученные данные свидетельствуют о безопасности исследуемого образца в отношении микробной контаминации и подтверждают соответствие требованиям по качеству для данной категории продукции.

References:

1. Abdelrahman, W., Khalil, R., & El-Sayed, W. (2023). Biomedical Applications and Toxicological Aspects of Zinc Oxide Nanoparticles: A Review. *Scientific Medical Journal*, 5(3), 91–102. <https://doi.org/10.21608/smj.2023.276631>
2. Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2021). The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules*, 25(1), 112. <https://doi.org/10.3390/molecules25010112>
3. Cheema, A.I., Nawaz, M.A., Munir, R.I., et al. (2022). Antimicrobial activity of biologically synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens of rice. *Physiology and*



Molecular Biology of Plants, 28(10), 1909–1921. <https://doi.org/10.1007/s12298-022-01232-3>

4. Mu, Y., Li, J., Huang, B., et al. (2023). Probabilistic health risk assessment of zinc oxide nanoparticles. *Environmental Science: Nano*, 10(2), 587–601.

<https://doi.org/10.1039/D2EN00570K>

5. Nanomaterials Editorial Team. (2025). Functional Properties and Safety Considerations of ZnO Nanoparticles. *Nanomaterials*, 15(12), 892. <https://doi.org/10.3390/nano15120892>

6. Varghese, R.M., Uthaman, A., Mathew, A., et al. (2024). Antimicrobial Activity of Zinc Oxide Nanoparticles Synthesized Using Ocimum Herbal Extracts Against Oral Pathogens. *Cureus*, 16(2), e54539. <https://doi.org/10.7759/cureus.54539>

7. Государственная фармакопея Республики Узбекистан. Т. XI. Вып. 2. – Ташкент: Узфармконтроль, 2004. – С. 193.

8. Изменение №2 к Государственной фармакопее Республики Узбекистан, XI издание. – Ташкент: Узфармконтроль, 2005. – 11 с.