Istina ili mit: kućni pripravci za čišćenje i UV zaštitu

Sara Polašek, 3. razred

Prirodoslovna škola Vladimira Preloga, Zagreb
Mentor: *Gorica Grozdanić*

SAŽETAK

Kako bi se unaprijedila kvaliteta istraživanja i smanjio *znanstveni otpad* u medicini i drugim granama znanosti, potrebno je osigurati da se samo provjereni i pouzdani rezultati i spoznaje koriste u zdravstvu, industriji i svakodnevnom životu. Nužno je osmisliti nove metode i optimizirati postojeće kako bi se smanjio rizik od nuspojava i neželjenih rezultata. Temeljem navedenog, cilj ovog istraživanja bio je antibiogramom ispitati učinkovitost kućno pripravljenih dezinficijensa, UV-Vis spektrofotometrom izmjeriti apsorbanciju kućno- pripremljenih krema za sunčanje te rezultate usporediti s komercijalnim proizvodima. Sukladno tome, pretpostavlja se kako će kućno pripravljeni dezinficijensi imati slabiji antibakterijski učinak na nepatogeni soj bakterije *Micrococcus luteus* od komercijalnog te da će kućno-pripremljena krema za sunčanje imati slabiju apsorbanciju i zaštitni faktor od komercijalnih. U skladu s očekivanim, statistička analiza rezultata pokazala je kako komercijalni dezinficijens ima najsnažnije antibakterijsko djelovanje, a zatim kućno pripravljeni dezinficijens sastava jednake količine vode i octa. Kućno-pripremljena krema za sunčanje imala je znatno manje vrijednosti apsorbancije od komercijalnih, a time i znatno slabiji, gotovo zanemariv, zaštitni faktor. Ovi rezultati ukazuju na važnost ispitivanja svojstava kućnih pripravaka kako bi se u populaciji spriječila nesvjesno nanesena šteta uzrokovana primjenom neprovjerenih metoda i proizvoda.

Ključne riječi: *antibakterijski učinak; zaštitni faktor; komercijalno; kućno-proizvedeno*

UVOD

Ljudi su već od davnina bili izloženi opasnostima i rizicima koje su im ugrožavale zdravlje. Zarazne bolesti uništavale su čitave populacije (Fauci i Morens, 2012), a manjak vitamina i minerala nerijetko je značio smrt. Potaknuti potrebom za promjenom i preživljavanjem, ljudi su pronalazili i osmišljavali rješenja ovih problema. Izumljena su i razvijena cjepiva, antibiotici, uspostavljene su higijenske mjere i uvedene metode za borbu protiv bolesti (Rappuoli, 2014). Sve je ovo bilo moguće razvojem znanosti koja je iskorjenjivala mitove i neprovjerene ideje, a zadržavala samo znanstvene činjenice. Iz ovoga se razvila ideja da sva znanost, posebice medicina, mora biti utemeljena na provjerenim i ponovljivim idejama. Stvorena je ideja medicine utemeljene na dokazima (Sackett i sur., 1996).

Stresna razdoblja, poput onih usred svjetske medicinske krize zbog pandemije koronavirusom, zahtijevale su brza i jednostavna rješenja, zbog čega ona često nisu bila dovoljno utemeljena na znanstvenim spoznajama (Nelson i sur., 2020). Osim rezultata znanstvenih radova koja nisu bila provjerena, za vrijeme pandemije također se pojavila i infodemija; pretjerana količina podataka koja nastupi za vrijeme trajanja pandemije. Tako su za vrijeme pandemije koronavirusom mediji postali glavni izvor podataka populaciji o stanju u svijetu. Pojavljivao se niz samoprozvanih stručnjaka koji su nudili savjete koji su ponekad bili točni, nerijetko krivi, a iznimno i katastrofalnih posljedica. Centri za kontrolu i prevenciju bolesti pronašli su kako je čak jedna u tri osobe u SAD-u na nesiguran način koristila sredstva za čišćenje za vrijeme pandemije, što je dovelo do porasta broja poziva prema centrima za trovanje (Gharpure i sur., 2020). Navode kako su pojedine osobe koje su same pokušale pripremiti sredstva za čišćenje iz neznanja miješale izbjeljivač s octom ili amonijakom i zagrijavale ga, što je uslijedilo stvaranjem plinova klora i kloramina koji mogu dovesti do znatnog oštećenja tkiva

pluća. Osim sredstava za čišćenje, u pokušaju liječenja i prevencije zaraze koronavirusom često su korišteni lijekovi koji nisu predviđeni suzbijanju virusne infekcije kod ljudi. U jednom su od takvih primjera korišteni klorokin i hidroksiklorokin koji se inače koriste za liječenje malarije, a u tretiranju infekcije koronavirusom

Autori zadržavaju autorska prava te časopisu daju pravo prvog objavljivanja rada u skladu s licencijom CC BY 4.0, koja dopušta drugima dijeljenje rada uz navođenje autorstva i izvornog mjesta objavljivanja rada u časopisu.

ne smanjuju smrtnost i ne skraćuju vrijeme potrebno za poboljšanje zdravstvenog stanja (Singh i sur., 2021). Još jedan krivo korišteni lijek u liječenju koronavirusa bio je ivermektin. Ovaj je lijek odobren za primjenu kod ljudi i životinja u liječenju parazitskih bolesti, a od samog izbijanja pandemije korišten je unatoč manjku znanstvenih dokaza o njegovoj učinkovitosti. Sinteza dokaza objavljena u časopisu COCHRANE nedvosmisleno je pokazala kako ivermektin nema učinka na liječenje koronavirusa (Popp i sur., 2022).

Tijekom posljednjih nekoliko desetljeća, ideja o vrijednosti dokaza u medicini proširila se znanstvenom zajednicom. Temelj ove ideje znanstveni je rad koji je pokazao kako je čak 85 % svih objavljenih radova u medicini vrlo malo doprinijelo stvaranju novih spoznaja (Ioannidis, 2005). Iz ove ideje razvijena je ideja znanstvenog otpada, odnosno rezultata i objavljenih znanstvenih radova koji ne doprinose općem napretku znanja, ili mu čak i odmažu (Macleod i sur., 2014). Uglavnom su ovo radovi koji istražuju kriva pitanja (na koja već postoje odgovori), koji koriste neprimjerenu metodologiju ili krivu metodu analize podataka, izostavljaju rezultate koji ne potvrđuju postavljenu hipotezu (kao što je bilo u testiranju ovisnosti unosa masti o razvoju kardiovaskularnih bolesti gdje su rezultati iz 15 država bili odbačeni zbog odstupanja od pretpostavke) (Ritterman, 2017), donose neodgovarajuće zaključke (poput onih o veličini atrofirale timusne žlijezde kronično bolesne djece zbog čega su mnoga bila pogrešno liječena i preminula od raka štitnjače) (Ritterman, 2017) ili na drugi način udaljavaju znanstvenu spoznaju od istine (Macleod i sur., 2014). Kao reakcija na ovaj znanstveni rad (Ioannidis, 2005) stvorila se ideja da moderna znanost, posebice u području medicine, mora na svaki način djelovati kako bi se znanstveni otpad umanjio ili u potpunosti iskorijenio. Mjere umanjivanja znanstvenog otpada višestruke su, a uključuju i korištenje neovisne replikacije rezultata koja nalaže kako se rezultati jednog istraživanja moraju moći ponoviti i provjeriti kako bi se utvrdila njihova ispravnost i ukupna vrijednost originalnog istraživanja (Nosek i Errington, 2020). Iako nikada neće biti moguće u potpunosti iskorijeniti sva istraživanja s pogrešnim rezultatima ili zaključcima, nužno je konstantno propitkivati spoznaje i razvijati nove ideje, a ključno je, ukoliko je zapažena pogreška, priznati je i daljnjim istraživanjem ispraviti kako bi se zaštitili životi pacijenata.

Osim neprovjerenih znanstvenih radova, bitno je također provjeravati valjanost objava iz područja znanosti kojima su autori osobe koje za to nisu kvalificirane. Neizmjeran je broj internetskih stranica i videa na društvenim mrežama koji nude brza, jednostavna, a neprovjerena rješenja svakodnevnih problema, a bitno je navesti kako se na ovakvim stranicama također često promoviraju kozmetički i drugi proizvodi autora. Ovaj fenomen, potaknut dostupnošću informacija putem interneta i društvenih mreža, omogućio je ljudima pristup neograničenoj količini neprovjerenih podataka. Osobe bez potrebnog predznanja bile su prisiljene same procjenjivati ispravnost podataka kojima su bile izložene. Neprovjerene terapije provodile su se bez odgovarajuće stručnosti i opreme, što je nerijetko dovodilo do neželjenih zdravstvenih posljedica. Osim već spomenutog recepta za izradu kućnog dezinficijensa miješanjem izbjeljivača i octa, na internetu je moguće pronaći veliki broj mrežnih stranica koje nude uputstva za mnoga druga sredstva za čišćenje. Potrebno je ne samo testirati učinkovitost ovih otopina na suzbijanje rasta bakterija metodama difuzije (*disk* ili *well*) i razrjeđivanja (Balouiri i sur., 2016), već i učinak koji ove otopine imaju na ljudsko zdravlje (uzrokuju li nadraživanje sluznice nosa, opekline na koži i sl.). Dodatno, sve je veći broj ljudi koji zbog izražene želje da im proizvodi budu „prirodni“ odlučuju samostalno početi proizvoditi svoje kreme za sunčanje. Ovo je pogotovo zabrinjavajuće s obzirom da se pretjeranim izlaganjem sunčevim UV zrakama bez odgovarajuće zaštite (ako krema nije dovoljnog zaštitnog faktora) drastično povećava vjerojatnost obolijevanja od raka kože i drugih eritemogenih oštećenja poput opeklina ili crvenila (EPA, 2024). Kako bi

se ovo spriječilo, potrebno je testiranjem apsorbancije spektrofotometrom i određivanjem zaštitnog faktora (SPF) odrediti koje su kućno- pripremljene kreme za sunčanje, ali i komercijalne, sigurne za upotrebu.

Mnogi se ljudi, unatoč uputstvima medicinskog i stručnog osoblja, samostalno dijagnosticiraju, liječe i osmišljavaju metode prevencije zaraze i ozlijede. Ukoliko se liječe krivom metodom ili prekasno započnu s potrebnim liječenjem, moguće je da će pretrpjeti ozbiljne zdravstvene posljedice koje su mogli izbjeći. Kako bi se spriječio broj ljudi koji će si nesvjesno naštetiti, ali i broj ljudi koji ništa neće postići korištenim metodama, potrebno je provoditi istraživanja kojima se ispituje i provjerava učinak kućno-proizvedenih pripravaka.

Temeljem navedene potrebe, glavni cilj ovog istraživanja bio je testirati učinkovitost kućnih pripravaka za čišćenje i kućno-proizvedenih krema za sunčanje. *Agar well diffusion* metodom cilj je bio ispitati antibakterijski učinak kućno pripravljenih dezinficijensa i usporediti ga s antibakterijskim učinkom komercijalnog dezinficijensa na nepatogeni soj *Micrococcus luteus*. Dodatni je cilj bio UV-Vis spektrofotometrom izmjeriti apsorbanciju kućno-proizvedenih krema za sunčanje i izračunati njihov zaštitni faktor i usporediti ga sa zaštitnim faktorom komercijalnih krema za sunčanje.

Sukladno navedenom, prva je pretpostavka istraživanja da će kućno pripravljeni dezinficijensi imati manju mjeru antibakterijskog učinka od komercijalnog dezinficijensa. Druga je pretpostavka da će kućno-proizvedena krema za sunčanje imati manju vrijednost apsorbancije od komercijalnih krema za sunčanje, a samim time i manji zaštitni faktor.

METODE RADA

U istraživanju je testirana učinkovitost kućnih pripravaka za čišćenje i kućno-proizvedenih krema za sunčanje. Svi su recepti za pripremu testiranih otopina pronađeni pretraživanjem internetskih stranica i ponovljeni s navedenim sastojcima u navedenoj količini prateći spomenuti postupak. Nepatogeni bakterijski soj *Micrococcus luteus* (Schroeter 1872) Cohn 1872 korišten u ispitivanju antibakterijskog djelovanja uzoraka dobiven je sa Zavoda za mikrobiologiju Prirodoslovno matematičkog fakulteta. Do trenutka provođenja ispitivanja, bakterijski soj bio je čuvan u inkubatoru na temperaturi od 25 °C. Svi su dijelovi testiranja antibakterijskog učinka provedeni u digestoru strogo se pridržavajući svih mjera zaštite. Drugi dio istraživanja odnosio se na mjerenje apsorbancije uzoraka krema za sunčanje. Test apsorbancije proveden je korištenjem V-760 UV-Vis spektrofotometra u znanstveno istraživačkom laboratoriju Zavoda za opću i anorgansku kemiju u BIOCentru.

Priprema uzoraka za testiranje antibakterijskog učinka

Pet različitih otopina za čišćenje bilo je pripremljeno prema uputama s internetskih stranica (tablica 1).

Tablica 1 Sastav otopina za čišćenje i metode pripreme

Uzorak	Sastav	Količina	Postupak pripreme
1D	terdžent za pranje posuđa	¼ žličice (1,2 mL)	U posudu pomiješati deterdžent, vodovodnu vodu i eterično ulje (u istraživanju korišteno eterično ulje limuna). Dobro promiješati.
	Vodovodna voda	1 čaša (237 mL)	
	Eterično ulje (po izboru)	4 – 6 kapi (u istraživanju korišteno 5)	
2D	Vodovodna voda	1 čaša (237 mL)	U posudu pomiješati vodovodnu vodu, bijeli ocat, izopropilni alkohol i eterična ulja. Dobro promiješati.
	Bijeli ocat	1 čaša (237 mL)	
	Izopropilni alkohol	2 žlice (30 mL)	
	Eterično ulje limuna	20 kapi	
	Eterično ulje čajevca	20 kapi	

Uzorak	Sastav	Količina	Postupak pripreme
3D	Ocat	1 dio	U posudu pomiješati ocat, vodovodnu vodu i eterično ulje. Dobro promiješati.
	Vodovodna voda	1 dio	
	Eterično ulje (limun)	5 – 15 kapi (u istraživanju korišteno 10)	
4D	Vodovodna voda	4 čaše (946 mL)	U posudu pomiješati vruću vodovodnu vodu, bijeli ocat i soda bikarbonu. Miješati dok se soda bikarbona ne otopi, zatim iscijediti limun i u otopinu dodati limunovu koru.
	Bijeli ocat	¼ čaše (59 mL)	
	Soda bikarbona	2 žlice (29 g)	
	Limun	1 komad	
5D	3 % vodikov peroksid	¼ čaše (59 mL)	U posudu pomiješati 3 % vodikov peroksid i vodovodnu vodu te dodati nekoliko kapi eteričnog ulja (u istraživanju korišteno eterično ulje limuna).
	Vodovodna voda	1 čaša (237 mL)	
	Eterično ulje (po izboru)	Nekoliko kapi (u istraživanju korišteno 5)	

Prva otopina 1D (McDonough Smith i Gautieri, 2024), druga otopina 2D (SGC, 2021), treća otopina 3D (Rising, 2024), četvrta otopina 4D (Rising, 2024) i peta otopina 5D (CB, 2024). Kao kontrolni uzorci u istraživanju su korišteni komercijalni dezinficijens (uzorak K) (sastava 72 g etanola, 0,05 g alkil-dimetil-benzil-amonijevog klorida, glicerol, ekstrak Aloe vera, gliceril-monooleat, pročišćena voda) i demineralizirana voda (uzorak V).

Testiranje antibakterijskog učinka kućnih otopina za čišćenje i kontrolnih uzoraka

Antibakterijski učinak otopina za čišćenje ispitan je agar well diffusion metodom (Balouiri i sur., 2016) na nepatogeni soj bakterije *M. luteus* stvaranjem varijacije antibiograma za svaki uzorak. Čvrsta podloga od općeg hranjivog agara proizvođača Biolife Italiana sastava goveđeg ekstrakta (3 g/L), peptona (5 g/L) i agara (15 g/L) korištena je za testiranje učinka otopina. Podloga je načinjena miješanjem 5,75 g agara s 250 mL vode i autoklaviranjem u CV-EL 12L/18L autoklavu proizvođača CertoClav. Nakon autoklava, podloga je bila ulivena u prethodno sterilizirane (suhi sterilizator ST-01/02 proizvođača Instrumentaria) Petrijeve zdjelice koje su odmah nakon bile položene u hladnjak na 24 sata kako bi se spriječilo nastajanje kondenzata. Nakon hlađenja, svaka je hranjiva podloga mikropipetom bila prelivena sa 125 µL bakterijske otopine koja je Drigalski spatulom bila razmazana na podlogu. Pore su napravljene bušenjem kružnica u podlozi od hranjivog agara sterilnom epruvetom promjera 8 mm i odstranjivanjem viška sterilnom pincetom. U svakoj Petrijevoj zdjelici načinjene su tri pore, jedna napunjena sa 70 µL pojedine kućne otopine za čišćenje, druga sa 70 µL komercijalnog dezinficijensa i treća sa 70 µL demineralizirane vode. Za svaku je otopinu postupak ponovljen 10 puta, čineći ukupno 50 Petrijevih zdjelica (10 pora za svaku kućnu otopinu za čišćenje i 50 pora za svaki kontrolni uzorak). Sve su zdjelice nakon nasađivanja bile odložene u inkubator (proizvođača Inkolab) na 72 sata na temperaturu od 25 °C prema uputstvima Zavoda za mikrobiologiju. Antibakterijski učinak zabilježen je mjerenjem zone inhibicije svakom pojedinom uzorku od granice pore do ruba zone inhibicije. U slučaju da zona inhibicije nije približno bila kružnica, izmjeren je najveći i najmanji odmak sa svake strane i izračunata je srednja vrijednost svih mjerenja za tu poru. Vrijednost zone inhibicije korištena u analizi podataka dobivena je računanjem srednje vrijednosti 10 izmjerenih zona inhibicije za pojedini uzorak kućnih dezinficijensa.

Priprema kućno-proizvedene kreme za sunčanje

Jedna krema za sunčanje bila je pripremljena prema uputama s internetske stranice (tablica 2) navedenog zaštitnog faktora 40 (Narmadha, 2020). Apsorbancija kreme za sunčanje testirana je neposredno nakon pripreme. Kao kontrolni uzorak korištene su dvije komercijalne kreme za sunčanje istog proizvođača: SPF50 i SPF30.

Tablica 2 Sastav kućno-proizvedene kreme za sunčanje i metoda pripreme

Uzorak	Sastav	Količina	Postupak pripreme
1K	Shea maslac	¼ čaše (85 g)	U vrućoj vodenoj kupelji otopiti shea maslac. Zatim dodati kokosovo ulje i pčelinji vosak. Nakon što su se svi sastojci otoplili, mješavinu hladiti 30 minuta. Konačno, dodati eterična ulja i promiješati.
	Ekstra djevičansko kokosovo ulje	2 žice (28,8 g)	
	Pčelinji vosak	2 žlice (28,8 g)	
	Sezamovo ulje	1 žlica (14,8 mL)	
	Eterično ulje sjemena mrkve	1 žlica (14,8 mL)	
	Eterično ulje lavande	10 kapi	

Testiranje apsorbancije kućno-proizvedene kreme za sunčanje i komercijalnih krema za sunčanje UV- Vis spektrofotometrom

Test apsorbancije proveden je po uzoru na postojeća istraživanja s promjenom parametara poput koncentracije uzoraka i otapala (Sayre i sur., 1979). 25 mg kućno-proizvedene kreme za sunčanje kvantitativno je bilo preneseno u volumetrijsku tikvicu od 50 mL i do oznake razrijeđen 96 % *pro analysis* alkoholom etanolom. Nakon intenzivnog miješanja, otopina je bila filtrirana kroz filter papir. Postupak je bio ponovljen za kontrolne uzorke vaganjem 15 mg uzorka SPF50 u volumetrijsku tikvicu od 50 mL i 25 mg uzorka SPF30 u drugu tikvicu od 50 mL koje su do oznake bile napunjene 96 % p.a etanolom. Zbog prevelike apsorbancije pri ovim koncentracijama, oba su uzorka dodatno bila razrjeđenja miješanjem 25 mL pojedine otopine s 25 mL čistog 96 % etanola. Za slijepu probu korišten je uzorak 96 % p.a etanola. Etanol je bio uliven u 10 mm kvarcnu kivetu do oznake i apsorbancija je mjerena u rasponu valnih duljina od 200 do 400 nm s pomakom od 0,5 nm. Mjerenje apsorbancije za testiranih pet uzoraka (1K masene koncentracije 0,5 mg/mL, SPF30_A koncentracije 0,5 mg/mL, SPF30_B koncentracije 0,25 mg/mL, SPF50_A 0,3 mg/mL i SPF50_B koncentracije 0,15 mg/mL) za svaki je ponovljeno tri puta. Vrijednosti korištene u istraživanju dobivene su računanjem srednjih vrijednosti apsorbancija za svaki uzorak pri pojedinoj valnoj duljini. Nakon određivanja svih vrijednosti apsorbancije, korištena je Mansurova formula za određivanje zaštitnog faktora (Mansur i sur., 1986).

Analiza podataka

Nakon što su sve vrijednosti bile izmjerene, provedena je statistička analiza računajući srednju vrijednost, standardnu devijaciju te provođenjem t-testa za vrijednosti zona inhibicije i računanjem zaštitnog faktora za kreme za sunčanje. Podatci su analizirani u programu MS Excel koristeći funkcije average, stdev i ttest (neovisni uzorci) uz razinu statističke značajnosti od $p < 0,05$. Izračun t-testa temeljio se na usporedbi pojedinih uzoraka s pripadajućim kontrolnim uzorkom (prosječna vrijednost deset zona inhibicije iz Petrijevih zdjelica s pripadajućim kućno pripravljenim uzorkom, ne od ukupne prosječne vrijednosti zona inhibicije komercijalnog dezinficijensa). Zaštitni faktor krema za sunčanje izračunat je uz korištenje Mansurove formule (slika 1) izmjerenim vrijednostima apsorbancije u rasponu od 290 to 320 nm.

$$SPF_{spectrophootometric} = CF \times \sum_{290}^{320} EE\,(\lambda) \times I\,(\lambda) \times Abs\,(\lambda)$$

Slika 1 Mansurova formula; SPF (zaštitni faktor), CF (korekcijski faktor, CF = 10), EE(λ) (eritemogeni učinak zračenja na valnoj duljini λ), I(λ) (intenzitet sunčeve svjetlosti na valnoj duljini λ), Abs(λ) (apsorbancija na valnoj duljini λ) (Mansur i sur., 1986)

EE(λ)·I(λ) vrijednosti (tablica 3) korištene u istraživanju standardne su u rasponu od 290 nm do 320 nm (Sayre i sur., 1979).

Tablica 3 Standardni produkt $EE_{(\lambda)} \cdot I_{(\lambda)}$ korišten za izračun zaštitnog faktora; EE(λ) (eritemogeni učinak zračenja na valnoj duljini λ), I(λ) (intenzitet sunčeve svjetlosti na valnoj duljini λ) (Sayre i sur., 1979)

Valna duljina (nm)	EE(λ)·I(λ)	Valna duljina (nm)	EE(λ)·I(λ)
290	0,0150	310	0,1864
295	0,0817	315	0,0839
300	0,2874	320	0,0180
305	0,3278		

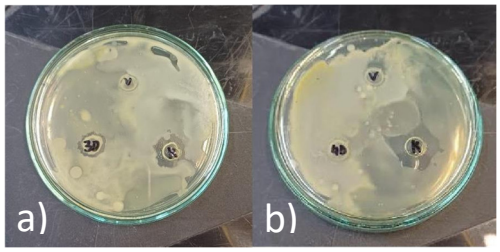
REZULTATI

Nakon mjerenja zona inhibicija, izračunata je srednja vrijednost zona inhibicije za svaki uzorak kućno proizvedenih dezinficijensa i za komercijalni dezinficijens (tablica 4). Srednja vrijednost zona inhibicije za uzorak demineralizirane vode iznosila je 0 mm.

Tablica 4 Prosječna vrijednost zona inhibicije (nm) ± standardna devijacija za uzorke kućnih proizvedenih dezinficijensa i komercijalni dezinficijens

Uzorak	Prosječna vrijednost zona inhibicije (mm) ± standardna devijacija		Statistička značajnost razlike zona inhibicije (p < 0,05)
	Kućno pripravljeni dezinficijens	Komercijalni dezinficijens	
1D	0,35 ± 0,41	3,55 ± 1,17	**$1{,}76 \cdot 10^{-7}$**
2D	1,60 ± 0,70	3,10 ± 0,74	**$1{,}90 \cdot 10^{-4}$**
3D	2,50 ± 0,67	3,00 ± 0,82	0,160
4D	0,10 ± 0,21	3,60 ± 0,70	**$1{,}09 \cdot 10^{-11}$**
5D	2,45 ± 0,83	3,10 ± 0,74	0,081

Najveću srednju vrijednost zona inhibicije imao je uzorak 3D (slika 2a), zatim neposredno manju srednju vrijednost zona inhibicije imao je uzorak 5D. Oko uzorka 4D nije se razvila zona inhibicije (slika 2b).



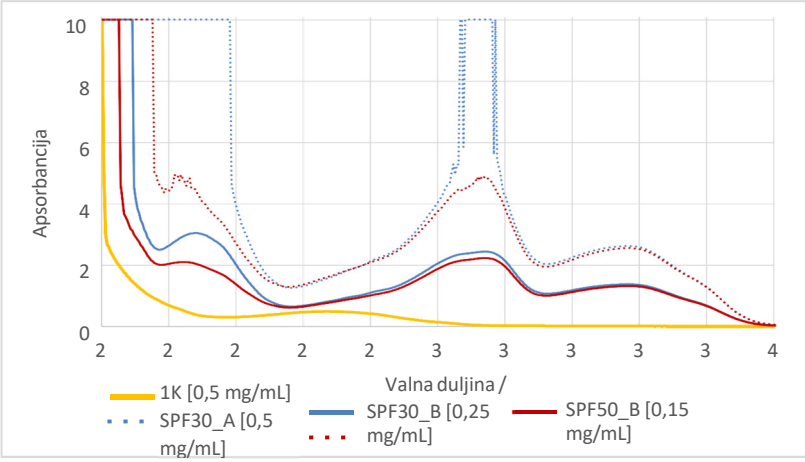
Slika 2 (a) Zone inhibicije kućno pripravljenog uzorka 3D, komercijalnog dezinficijensa i vode; (b) zone inhibicije kućno pripravljenog uzorka 4D, komercijalnog dezinficijensa i vode

Autor: Polašek S., 2025

Statistički značajni rezultati dobiveni su pri usporedbi zona inhibicije uzoraka 1D, 2D i 4D sa zonama inhibicije komercijalnog dezinficijensa iz pripadajućih Petrijevih zdjelica (tablica 4). Usporedbom zona inhibicije uzoraka 3D i 5D s kontrolnim uzorkom nije zabilježen statistički značajan rezultat.

Rezultati mjerenja apsorbancije (slika 3) pokazuju kako je najmanju vrijednost imao kućni uzorak 1K u svim područjima spektra (unatoč većoj koncentraciji od uzorka SPF50).

Uzorku 1K izmjerena je najveća vrijednost apsorbancije od 0,478812 pri valnoj duljini 267 nm (UVC). Uzorku SPF30_B najveća izmjerena vrijednost apsorbancije iznosila je 4,53943 pri valnoj duljini od 209 nm (UVC), a u rasponu valnih duljina u UVB području najveća je vrijednost apsorbancije iznosila 2,4284 pri 314 nm. Uzorku SPF50_B najveća je izmjerena vrijednost apsorbancije 2,21932 pri valnoj duljini od 314 nm.



Slika 3 Ovisnost apsorbancije o valnoj duljini za sve testirane uzorke

Zaštitni faktor za svaki je uzorak dobiven od vrijednosti apsorbancije na području UVB spektra (tablica 5).

Tablica 5 Srednje vrijednosti apsorbancije za sve testirane uzorke na UVB području spektra

Valna duljina	1K (0,5 mg/mL)	SPF30_A (0,5 mg/mL)	SPF30_B (0,25 mg/mL)	SPF50_A (0,3 mg/mL)	SPF 50_B (0,15 mg/mL[1])
290	**0,248580**	2,71602	1,40973	2,61887	1,29843
295	0,178528	3,30159	1,71555	3,13495	1,57174
300	0,136386	4,05402	2,04937	3,7595	1,87084
305	0,089333	**4,94263**	2,29713	4,35798	2,09413
310	0,069443	10	2,38606	4,59634	2,17698
315	0,050563	10	**2,42103**	**4,75703**	**2,21355**
320	0,023235	4,23707	2,11423	3,79598	1,93204

Uzorak 1K imao je najmanji zabilježeni zaštitni faktor (tablica 6). Najveći je zaštitni faktor zabilježen za uzorak SPF30_A. Najmanji je zaštitni faktor kontrolnih uzoraka bio zabilježen za uzorak najmanje masene koncentracije, SPF50_B. Uzorci SPF50_B i SPF30_B imali su slične vrijednosti zaštitnog faktora. Dodatno, proveden je izračun vrijednosti zaštitnog faktora za uzorak SPF30_A bez dvije izmjerene vrijednosti, izmjerene na valnim duljinama od 310 i 315 nm, čija je vrijednost iznosila 10 (tablica 5). Vrijednost korigiranog zaštitnog faktora za uzorak SPF30_A iznosila je 31,36.

Tablica 6 Eksperimentalne vrijednosti zaštitnog faktora svakog testiranog uzorka dobivene Mansurovom formulom; u zagradi je prikazana vrijednosti zaštitnog faktora nakon isključivanja dva mjerenja s maksimalnim vrijednostima za uzorak SPF30_A

	1K	SPF30_A	SPF30_B	SPF50_A	SPF50_B
štitni faktor (SPF)	**1,03**	58,39 (31,36)	21,71	40,95	19,81

RASPRAVA

Rezultati ovog učeničkog rada pokazuju kako je antibakterijski učinak kućno pripravljenih dezinficijensa, iako postoji, u većini slučajeva znatno manji od antibakterijskog učinka komercijalnog dezinficijensa. Sukladno tome, prva pretpostavka istraživanja potvrđena je, odnosno moguće je zaključiti kako je komercijalni dezinficijens učinkovitiji u suzbijanju širenja bakterije *M. luteus* u odnosu na kućno pripravljene dezinficijense. Ovo je u skladu s jednim drugim istraživanjem u kojem je zabilježeno kako je kućni pripravak za čišćenje (DIY uzorak) bio manje učinkovit od izbjeljivača i ekološkog proizvoda (EP) na bakterije *Escherichia coli* (Migula, 1895) Castellani i Chalmers (1919) i *Staphylococcus aureus* Rosenbach 1884 (Goodyear i sur., 2015). Analizom antibakterijskog učinka pojedinih komponenti DIY dezinficijensa jedino je ocat imao značajan učinak na bakteriju *E. coli*, dok je cijeli uzorak imao nezadovoljavajući učinak na bakteriju *S. aureus*. Također, u ovome je istraživanju pronađeno kako DIY uzorak gubi učinkovitost

prolaskom vremena, ukazujući na to da bi ga osobe koje ga koriste za čišćenje svakodnevno trebale svježe pripremati kako bi bio učinkovitiji od onog starog 24 sata (Goodyear i sur., 2015).

Analiza rezultata pokazala je kako je uzorak 4D, sastava vodovodne vode, octa, sode bikarbone i limuna, neučinkovit u suzbijanju rasta bakterije *M. luteus*. Moguće objašnjenje ovako male izmjerene zone inhibicije reakcija je neutralizacije koja se dogodila pri miješanju natrijeva hidrogenkarbonata (soda bikarbona) i octene kiseline u kojoj je nastala sol natrijev acetat, voda i plinoviti ugljikov dioksid. Iako ovaj uzorak nije pokazao nikakvo antibakterijsko djelovanje na testiranom nepatogenom soju, moguće je da bi demonstrirao učinak na nekoj drugoj bakterijskoj vrsti. Zbog ovoga je potrebno provoditi daljnja istraživanja na druge patogene i nepatogene vrste kako bi se utvrdio širi raspon učinkovitosti i preciznije odredila uporaba pojedinog dezinficijensa.

Mehanizmi djelovanja testiranih dezinficijensa i njihovih komponenti na bakterije višestruki su. Primjenom etanola može se oštetiti struktura membrane, omesti dioba stanica, promijeniti pH unutarstanične tekućine, mogu se uzrokovati promjene u sintezi proteina i dr. (Chatterjee i sur., 2006). Uz korištenje octa, zbog octene se kiseline smanjuje se pH unutarstanične tekućine i time inhibira rast i razvoj patogenih mikroorganizama (Trček i sur., 2015). Vodikov peroksid, ovisno o koncentraciji i vrsti bakterije na koju se primjenjuje, može djelovati bakteriostatski ili baktericidno (Juven i Pierson, 1996). Za citotoksičnost vodikova peroksida odgovorni su izrazito reaktivni radikali, nespareni elektroni najčešće kisikovih i dušikovih spojeva (kod vodikova peroksida hidroksilni radikal), koji uzrokuju oksidativni stres (neravnotežu između nakupljanja i neutralizacije slobodnih radikala) i oštećuju nukleinske kiseline, proteine i lipide od kojih je izgrađena stanična membrana bakterija (Juven i Pierson, 1996).

S obzirom da je temeljna komponenta svakog kućno pripravljenog dezinficijensa bila ocat, etanol ili vodikov peroksid, svaka je otopina (osim one u kojoj se dogodila neutralizacija) pokazala ograničeno antibakterijsko djelovanje. Moguće je zaključiti kako prevelikim razrjeđenjem ove otopine gube svoju učinkovitost, odnosno svoju primjenu. U slučaju da određeni komercijalni proizvod ne odgovara potrebama potrošača, potrebno je potražiti provjereni proizvod koji bolje odgovara potrebi, ne proizvoditi novo sredstvo vlastitim miješanjem kemikalija ili pretjeranim ublaživanjem postojećih.

Rezultati drugog dijela istraživanja pokazali su kako su mjerenja apsorbancije za uzorak 1K i njegova vrijednost zaštitnog faktora znatno manji od vrijednosti apsorbancije i zaštitnih faktora kontrolnih uzoraka. Ovime je druga hipoteza također potvrđena. Međutim, jedan je od izazova ovog istraživanja bio osigurati usporediva mjerenja apsorbancije. Zbog previsoke vrijednosti apsorbancije komercijalnih krema, spektrofotometrom nije bilo moguće ispravno izmjeriti njihove vrijednosti. Zbog toga su komercijalne kreme bile dodatno razrijeđene, a razrijeđena krema zaštitnog faktora 50 manje je koncentracije od ostalih. Unatoč maloj razlici u koncentracijama, nije moguće izravno uspoređivati vrijednosti apsorbancije, no moguće je zaključiti kako čak i u znatno manjoj koncentraciji kreme i zaštitnog faktora 30 i zaštitnog faktora 50 imaju puno veću opću vrijednost apsorbancije, a samim time i zaštitni faktor.

Dodatnom analizom djelovanja u pojedinom dijelu spektra, moguće je vidjeti kako su oba kontrolna uzorka aktivna u UVA (od 320 do 400 nm) i UVB (od 290 do 320 nm) rasponu. S obzirom da pretjerano izlaganje UVA i UVB zračenju može uzrokovati oštećenje tkiva, potrebno je koristiti kremu za sunčanje koja pruža zaštitu u svim dijelovima spektra (Mancuso i sur., 2017). Stoga je moguće zaključiti kako komercijalne kreme služe funkciji kojoj su namijenjene. Kućno-proizvedena krema za sunčanje nema djelovanje u UVA

i UVB spektru, a najviše vrijednosti apsorbancije ima u UVC rasponu. Zbog slabog ili nepostojećeg djelovanja u rasponu u kojem bi trebala biti djelotvorna, neovisno o vrijednosti zaštitnog faktora moguće je zaključiti kako testirana kućno-proizvedena krema za sunčanje nije učinkovita.

Na početku je istraživanja bilo previđeno testiranje apsorbancije za dva uzorka kućno-proizvedenih krema za sunčanje, ali zbog cinkova oksida u sastavu jedne ona nije mogla biti testirana UV spektrofotometrom. Međutim, kako je temeljni recept svih kućno-proizvedenih krema za sunčanje bio jednak ili približno jednak, ispitana je apsorbancija samo jedne ovakve kreme, odnosno u istraživanje nije uvrštena supstitucija za odbačeni uzorak. Dodatan bi način testiranja učinkovitosti kreme za sunčanje bio izravno izlaganje kože sunčevu zračenju i mjerenje vremena do pojave eritema, odnosno crvenila kože. Kako ova metoda nije mogla biti korištena u istraživanju, u izračunu je zaštitnog faktora bio korišten standardni produkt eritema i intenziteta sunčeva zračenja iz literature. Moguće je da bi rezultati bili drugačiji od izmjerenih da je neovisno provedeno mjerenje eritema specifično za istraživanje.

Naposljetku, kako bi se utvrdila njihova pouzdanost, rezultate ovog istraživanja trebalo bi potvrditi neovisnim istraživanjem. Na ovaj bi se način ustanovilo da tijekom provedbe istraživanja nije došlo do pojave pogreške koja bi umanjila njegov značaj.

ZAKLJUČCI

Temeljem rezultata ovog učeničkog istraživačkog projekta moguće je zaključiti sljedeće:

- kućno pripravljeni dezinficijensi manje su učinkoviti od komercijalnog, odnosno zabilježen im je manji antibakterijski učinak na nepatogeni soj *M. luteus*;
- najučinkovitiji kućno proizvedeni dezinficijensi uzorci su 3D (sastava jednake količine vodovodne vode i octa) i 5D (sastava vodovodne vode i vodikova peroksida), a najmanje je učinkovit uzorak 4D (sastava bijelog octa, sode bikarbone i vode);
- kućno-proizvedena krema za sunčanje ima manju ukupnu vrijednost apsorbancije od komercijalnih krema, a samim time i manji zaštitni faktor.

ZAHVALA

Zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Tomislavu Ivankoviću na ustupanju bakterijskog soja *M. luteus* korištenog u istraživanju te izv. prof. dr. sc. Ani Budimir na omogućavanju korištenja UV-Vis spektrofotometra i stručnoj pomoći pri analizi uzoraka.

LITERATURA

Balouiri M., Sadiki M., Ibnsouda S. K. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of pharmaceutical analysis 6: 71–79.

CB. 2024. How to make your own disinfectant spray. Cleanzen Blog. https://cleanzen.com/blog/diy-disinflectant-spray/, pristupljeno 4.1.2025.

Chatterjee I., Somerville G. A., Heilmann C., Sahl H. G., Maurer H. H., Herrmann M. 2006. Very low ethanol concentrations affect the viability and growth recovery in post-stationary-phase *Staphylococcus aureus* populations. Applied and environmental microbiology 72: 2627–2636.

EPA. 2024. Health Effects of UV Radiation. United States Environmental Protection Agency. https://www.epa.gov/sunsafety/health-effects-uv-radiation, pristupljeno 2.1.2025.

Fauci A. S., Morens D. M. 2012. The perpetual challenge of infectious diseases. New England journal of medicine 366: 454–461.

Gharpure R., Hunter C. M., Schnall A. H., Barrett C. E., Kirby A. E., Kunz J., Berling K., Mercante J. W., Murphy J. L., Garcia-Williams A. G. 2020. Knowledge and practices regarding safe household cleaning and disinfection for COVID-19 prevention — United States, May 2020. Morbidity and Mortality Weekly Report 69: 705–709.

Goodyear N., Brouillette N., Tenaglia K., Gore R., Marshall J. 2015. The effectiveness of three home products in cleaning and disinfection of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* on home environmental surfaces. Journal of applied microbiology 119: 1245–1252.

Ioannidis J. P. 2005. Why most published research findings are false. PLoS Med 2: e124.

Juven B. J., Pierson M. D. 1996. Antibacterial effects of hydrogen peroxide and methods for its detection and quantitation. Journal of food protection 59: 1233–1241.
Khalid I. S. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. Food Control 18: 566–575.
Macleod M. R., Michie S., Roberts I., Dirnagl U., Chalmers I., Ioannidis J. P., Al-Shahi. 2014. Biomedical research: increasing value, reducing waste. Lancet 383: 101–104.
Mancuso J. B., Maruthi R., Wang S. Q., Lim H. W. 2017. Sunscreens: an update. American journal of clinical dermatology 18: 643–650.
Mansur J. S., Breder M. N. R., Mansur M. C. A., Azulay R. D. 1986. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. An Bras Dermatol Rio De Janeiro 61: 121-124.
McDonough Smith L., Gautieri A. 2024. How to make simple homemade cleaning sprays. Good Housekeeping, https://www.goodhousekeeping.com/, pristupljeno 2.1.2025.
Narmadha. 2020. DIY Homemade Sunscreen With SPF 40 – Without Zinc Oxide. Write a path. https://writeapath.com/diy-homemade-sunscreen-with-spf-40-without-zinc-oxide/, pristupljeno 4.1.2025.
Nelson T., Kagan N., Critchlow C., Hillard A., Hsu A. 2020. The danger of misinformation in the COVID-19 crisis. Missouri medicine 117: 510–512.
Nosek B. A., Errington T. M. 2020. What is replication? PLoS Biol 18: e3000691.
Popp M., Reis S., Schießer S., Hausinger R. I., Stegemann M., Metzendorf M. I., Kranke P., Meybohm P., Skoetz N., Weibel S. 2022. Ivermectin for preventing and treating COVID-19. Cochrane Database of Systematic Reviews 6: CD015017.
Rappuoli R. 2014. Vaccines: science, health, longevity, and wealth. PNAS 111: 12282.
Rising H. 2024. How to make a natural disinfectant. wikiHow, https://www.wikihow.com/Make-a-Natural- Disinfectant, pristupljeno 4.1.2025.
Ritterman J. B. 2017. To err is human: can American medicine learn from past mistakes? The Permanente journal 21: 16–181.
Sackett D. L., Rosenberg W. M., Gray J. A., Haynes R. B., Richardson W. S. 1996. Evidence based medicine: what it is and what it isn't. BMJ 312: 71-72.
Sayre R. M., Agin P. P., LeVee G. J., Marlowe E. 1979. A comparison of in vivo and in vitro testing of sunscreening formulas. Photochemistry and photobiology 29: 559–566.
SGC. 2021. 3 Safe + Natural DIY Ways to Disinfect Your Home (Recipes Included!). Sandia Green Clean, https://sandiagreenclean.com/3-safe-natural-diy-ways-to- disinfect-your-home-recipes-included/, pristupljeno 4.1.2025.
Singh B., Ryan H., Kredo T., Chaplin M., Fletcher T. 2021. Chloroquine or hydroxychloroquine for prevention and treatment of COVID-19. Cochrane Database of Systematic Reviews 2: CD013587.
Trček J., Mira N. P., Jarboe L. R. 2015. Adaptation and tolerance of bacteria against acetic acid. Applied microbiology and biotechnology 99: 6215-29.