

**В. П. Герасименя, К. З. Гумаргалиева, С. В. Захаров,
М. А. Клыков, И. Г. Калинина, С. А. Семенов,
Д. Р. Хузаханова, Г. Е. Заиков**

КИНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД ОЦЕНКИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НАНОСТРУКТУРНЫХ ЧАСТИЦ СЕРЕБРА

Ключевые слова: нанотехнология; биотехнология; фунгициды; биоциды; nano частицы серебра.

*Показано, что введение наночастиц (НЧ) серебра в многотоннажные полимеры - полистирол (ПС) и сополимер стирола с акрилонитрилом (САН) придает им фунгицидные свойства. Проведено количественное описание процесса роста микроскопических грибов и бактерий в присутствии разных концентраций НЧ серебра с целью дальнейшего прогноза. Показано, что добавка НЧ серебра существенно подавляет рост как на начальной, так и на стационарной стадиях роста микроскопических грибов *Aspergillus niger* и *Penicillium chrysogenum*. Ингибирование роста бактерий проявляется в увеличении периода индукции (лаг-фазы).*

Keywords: nanotechnology, biotechnology, fungicides, biocides, nano particles of argentums

*It is show that the introduction of nano particals (NP) of argentums in the industrial polymers – polystyrol (PS) and copolymer of styrol with acrylonitrile (CAN) is giving them fungicide properties. It is passed quantitative describing of the growth microscopy fungi and bacterien in the presence of the difference concentrations (NP) argentum for further prognose. It is recived that adding (NP) of argentums is importance suppressed the growth in the initial and stacionare stages of the fungies *Aspergillus niger* and *Penicillium chrysogenum*. The inhibition of bacterien growth is displayed in the increasing of the induction period (lag-phase).*

Введение

Известно, что ионы серебра и соединения на основе серебра высокотоксичны как для микроорганизмов, так и для бактерий, например, *E.coli* [1,2]. В работе [3] показано ингибирующее действие НЧ серебра на микробный рост, подавление которого протекает по свободно – радикальному механизму, что дает возможность использовать их в медицине и в системах антимикробного контроля. В работе [4] Meckling с соавторами показали, что соединения НЧ серебра с амфифильными гиперразветвленными макромолекулами также являются эффективными антимикробными агентами.

Гибриды НЧ серебра (1-2 нм) с высоко-разветвленными амфифильными, модифицированными полиэтиленiminaми эффективно адгезируют к полярным поверхностям, делая поверхность антимикробной. Известно, что коллоидное серебро проявляет антимикробное свойство, частицы которого плохо прикрепляются к поверхности. Авторы синтезировали гибриды частиц серебра с высоко-разветвленными амфифильными, модифицированными полиэтиленiminaми и получили антимикробное покрытие. Получение НЧ серебра и влияние компонентов среды на процесс их формирования в композиционном растворителе метилцеллозольв – бутилацетат – толуол и в растворе сополимера метилметакрилата с метакриловой кислотой рассмотрено в работе [5]. С помощью метода атомно – силовой микроскопии показано, что частицы размером порядка 50...500 нм формируются в системе трифтороацетат серебра – композиционный раствор. Авторами показано, что добавки бутилацетата и толуола способствуют повышению устойчивости комплексов ионов серебра с метилцеллозольвом. Молекулы сополимера в растворе препятствуют укрупнению НЧ серебра, замедляя процесс их осаждения

[5]. Вместе с тем, несмотря на большое количество исследований в этой области, единого мнения по механизму действия НЧ серебра не установлено. Большинство исследователей связывают подавление роста микроорганизмов с образованием свободных радикалов на поверхности НЧ серебра, которые, атакуя мембрану клетки микроорганизма, приводят к ее полному разрушению [4]. По мнению другой группы авторов механизм ингибирующего влияния нано - размерных частиц серебра может заключаться в электростатическом эффекте притяжения между отрицательно заряженной клеточной мембраной микроорганизма и положительно заряженными НЧ серебра [6,7,8]. Напротив Sondi и Salopek [8] отмечают, что антимикробная активность НЧ серебра на грамм – отрицательные бактерии зависит от их концентрации и связана с образованием «язв» на стенке бактериальной клетки, приводящих к изменению проницаемости мембраны клетки, влекущую ее гибель, которая вызывается ускоренным истечением молекул липополисахаридов и протеинов мембраны [9,10]. Авторы работ [3, 11] антимикробную активность НЧ серебра также связывают с воздействием радикалов на клеточные мембраны, что было показано методом ЭПР. Электронный микроскопический анализ ясно показал, что НЧ серебра аккумуляровались в мембране, т.к. некоторые из них успешно проникали в клетки.

Просачивание межклеточных веществ и коагуляция наноразмерных частиц на поверхности бактерии видно в пропускающем микроскопе. Работы Klabunde [12] демонстрировали, что НЧ оксидов активных металлов показали высокую бактериальную активность, интересно было изучить использование других неорганических НЧ как антибактериальные материалы. Немного известно о биоцидном влиянии частиц благородных металлов. Механизм ингибиторного влияния ионов серебра на микроор-

ганизмы частично известен. Полагают, что ДНК теряет свою воспроизводительную способность и клеточные белки становятся неактивными при обработке ионами серебра [13]. Также было показано, что связи ионов серебра с функциональными группами белков, приводят к разрушению белков [14]. Авторами [15,16] рассмотрены особенности каталитического действия поверхностно-активных веществ (ПАВ) в процессах окисления углеводов и липидов, показано, что гидропероксиды, первичные амфифильные продукты окисления липидов, образуют с ПАВ смешанные мицеллы, в которых происходит ускоренный распад пероксидов, концентрируются другие полярные компоненты – соединения металлов, ингибиторы и т. д., что существенным образом влияет на скорость и механизм окисления. При сравнении действия ПАВ различной природы было обнаружено, что катионные ПАВ ускоряют распад гидропероксидов с образованием свободных радикалов [18], т.е. являются катализаторами радикального распада гидропероксида. Анионные и неионные ПАВ не оказывают такого влияния. Распад гидропероксидов на радикалы обеспечивает вырожденное разветвление цепей и автокаталитическое развитие процесса окисления в целом. Механизм каталитического действия катионных ПАВ на процессы окисления состоит в ускорении вырожденного разветвления цепей при распаде гидропероксидов. Генерируемые пероксидные радикалы выходят в объем и могут инициировать цепное окисление. Гидропероксиды образуются также в ходе биохимических процессов в живых организмах. Каталитическое разложение липопероксидов клеточных мембран на радикалы в присутствии КПАВ и последующие реакции радикалов с полиеновыми соединениями, липидами, белками и другими компонентами клетки, приводящие к их необратимому разрушению – возможный механизм бактерицидного действия КПАВ.

В работе [19] показано, что серебро хорошо сорбируется широким кругом микроорганизмов: водорослями, грибами и бактериями. Однако, большинство работ по взаимодействию серебра с клетками посвящено его действию в ионной форме [20]. Интересны работы по биологическому действию НЧ-серебра на дрожжевые клетки. Взаимодействие ионов и стабильных наноразмерных кластеров серебра, синтезированных радиационно-химическим методом в обратных мицеллах, исследовано в широком диапазоне концентраций с дрожжевыми клетками *Candida utilis* и *Saccharomyces Cerevisiae* в водных и водно-органических растворах [19]. Было установлено, что биоцидный эффект кластеров Ag превосходит действие ионов серебра. Показано, что ионы Ag не влияют на рост дрожжевых клеток, в то время как НЧ угнетают процесс ферментации. В работе [21] показано, что токсический концентрационно-зависимый эффект ионов в отношении бактерий и дрожжей, обусловлен связыванием ионов Ag с белками и липидами клеточных мембран и впоследствии изменением трансмембранного потенциала, вплоть до пробоя мембран и гибели клетки. Механизм действия НЧ серебра на живые клетки остается

невыясненным. В работе [22] показано ингибирующее влияние НЧ серебра на развитие ряда микроорганизмов. Другим результатом взаимодействия ионов серебра с микроорганизмами (при концентрациях ионов серебра выше 45 мкМ, является организация НЧ серебра, как вне клеток, так и в предплазменном пространстве (у бактерий) или на поверхности клеточной стенки (у дрожжей). Одновременно с исследованиями механизма образования НЧ серебра и других металлов постоянно расширяется область нанонауки и нанотехнологии, использующая достижения физики, химии, инженерии и техники на наномасштабных уровнях. Число научных исследований в области нанотехнологий, нанокompозитов (композиты: полимер – наночастицы) в последние десятилетия растет экспоненциально и особое внимание уделяется взаимосвязи «структура – свойства» и их применению. Разрушение и срок службы полимеров рассматривается в присутствии НЧ (нанокompонентов) при различных условиях окружающей среды, а также роль НЧ при биоразрушении полимеров [23-24].

Существуют три основных направления поисковых и прикладных работ: биоразлагаемые полимеры на основе полиэфиров гидроксикарбоновых кислот, композитные материалы на основе природных полимеров, модификация уже существующих промышленных полимеров и придание им новых свойств. Крупнотоннажные полимеры: ПЭ, ПП, ПВХ и ПС без модификации и изделия из них могут храниться десятилетиями. Иногда необходимо придавать изделиям антибактериальные свойства, но после истечения срока их годности, необходимо их утилизировать. Широкое использование биodeградируемых полимеров затруднено из-за их высокой стоимости по сравнению с традиционными материалами.

Часто при получении новых материалов желательнее, если не улучшения, то, во всяком случае, сохранения их физико-химических и бактериальных свойств, что можно достигнуть используя нано добавки в полимер на стадии его переработки. Целью настоящей работы было введение НЧ серебра в многотоннажные полимеры - полистирол (ПС) и сополимер стирола с акрилонитрилом (САН) и определение антимикробных, фунгицидных свойств полимеров с НЧ серебра, а также количественное описание процесса микробиологического обрастания полимеров с целью прогноза.

Производство новых композиционных материалов вызывает неослабевающий научный интерес к различным видам деструкции и стойкости этих материалов. Как показано в наших работах по изучению биостойкости полимеров и металлов [25,26,27] биоповреждение материалов происходит при их контакте с живыми организмами и приводит к изменению их эксплуатационных свойств. В общем случае при биоповреждении протекают следующие процессы: адсорбция на поверхности материала микроорганизмов; рост микроорганизмов; разрушение материала либо в результате специфического действия (живые организмы используют полимерный материал в качестве источника пита-

ния), либо под действием продуктов метаболизма. Рост и развитие микроскопических грибов и бактерий на твердых поверхностях обычно оценивают по шестибальной шкале гостированными методами или по росту диаметра колоний определенного вида или набора микроскопических грибов. Это связано с экспериментальными трудностями обнаружения биомассы в количествах нескольких мкг/см² на начальных стадиях роста [28]. Для защиты от биообращения материалов используют низкомолекулярные химические вещества, так называемые, биоциды. Номенклатура веществ, обладающих биоцидными свойствами, постоянно расширяется. В настоящее время наиболее широко применяются методы оценки фунгицидной активности химических веществ, основанные на измерении скорости роста колоний грибов на агаризованных средах в присутствии этих веществ [28]. Эти методы являются полуколичественными и субъективными, они не позволяют определить влияние биоцидов на различные стадии развития микроорганизмов. Так как биообращение материалов развивается во времени, то кинетические методы исследования в наибольшей степени подходят для оценки эффективности биоцидов [29,30]. Цель настоящей работы количественно оценить процесс роста гостированных видов микроскопических грибов и бактерий в присутствии добавки модифицирующей многофункциональной (ДММ) марки «Аквивон -ТМ», ТУ 2499-024-87552538-12 с различной концентраций НЧ серебра и оценить его влияние на физико – химические свойства полистирола и сополимера стирола с акрилонитрилом, а также на возможность процесса адгезии и роста на поверхности ПС и САН бактерий и грибов.

Экспериментальная часть

Материалы и методы

Фунгицидные свойства полимерных образцов без и с НЧ серебра, нанесенными на полимерные гранулы из водного 2% -ого коллоидного раствора НЧ серебра в органической дисперсии марки «АКВИВОН», ТУ 2499-022-87552538-10, изучались на полимерных дисках из полистирола и сополимера стирола с акрилонитрилом. Диски получали прессованием при плавлении (160°С) и дальнейшем охлаждении в течение 40 – 60 минут до 60°С. Толщина образцов составляла 100 мкм, диаметр 50 мм. Температурные характеристики образцов в, частности, значения температуры стеклования (T_g) определяли на ДСК калориметре фирмы “TA Instruments DSC Q100” результаты прямого и повторного плавления представлены в таблице 1.

Присутствие комплексов серебра в полимерах не отразилось на ИК-Фурье спектрах для всех образцов, т.е. на температурных и спектральных характеристиках образцов, присутствие НЧ серебра не сказалось.

Согласно ГОСТ 9.049-91 полимерные образцы, очищенные от загрязнений, размещали в чашки Петри на твердую питательную среду (среду Чапека-Докса с агаром), заражали суспензией спор грибов в среде Чапека-Докса и выдерживали в условиях

оптимальных для развития грибов с последующей оценкой фунгицидных свойств по интенсивности роста грибов на образцах и питательной среде.

Таблица 1 - Значения температуры стеклования прямого и повторного плавлений для образцов полистирола, сополимера стирола с акрилонитрилом без и в присутствии наночастиц серебра

Наименование образцов	T_g , °С	T_g , °С, Повторное плавление
Сополимер стирола с акрилонитрилом, контроль	110,4	110,6
Сополимер стирола с акрилонитрилом с НЧ серебра, вариант №1	111,0	110,7
Полистирол, контроль	97,9	97,4
Полистирол с НЧ серебра, вариант №2	111,0	110,7

Условия проведения испытаний: продолжительность испытаний - 14 суток, температура поддерживалась постоянной +29±2°С, относительная влажность воздуха - более 90%.

Виды плесневых грибов: *Aspergillus niger van Tieghem*, *Aspergillus terreus Thom*, *Aspergillus oryzae (Ahlburg)*, *Penicillium funiculosum Thom*, *Penicillium chrysogenum Thom*, *Penicillium cyclopium Westling*, *Paecilomuces varioti Bainier*, *Chaetomium globosum Kunze*, *Trichoderma viride Pers. Ex Fr.*

Показателями фунгицидных свойств является интенсивность развития плесневых грибов на образцах в баллах по шестибальной шкале ГОСТ 9.048-89 [31], наличие ингибиторной зоны (зоны отсутствия роста) на питательной среде вокруг образца. Согласно ГОСТ 9.049-91 [32] сильный фунгистатический эффект характеризуется отсутствием роста грибов на образце (балл 0). Отсутствие роста на образце и наличие ингибиторной зоны на питательной среде вокруг образца означает сильное проявление фунгицидного эффекта НЧ серебра в результате диффундирования вещества в питательную среду. Рост грибов на образце соответствующий баллу 1, свидетельствует о слабой фунгистатичности материала, а рост 2...5 баллов - об отсутствии фунгицидного эффекта.

Результаты эксперимента

Результаты исследований показали, что образцы материалов из ПС и САН с НЧ серебра обладают выраженными фунгицидными свойствами. При этом, контрольные образцы не обладают фунгицидными свойствами [32].

Электронно-микроскопический анализ полимерных образцов после смыва с его поверхности микробных колоний показал, что адгезия носит необратимый характер, причем в присутствии НЧ серебра наблюдаются многочисленные фрагменты микроорганизмов.

Испытания бактерицидных свойств НЧ серебра

В качестве тест-организмов использовали ряд микроскопических грибов и бактерий: *Bacillus mycoides*, *Micrococcus flavus*; *E. coli*; *Aspergillus niger*; *Penicillium chrysogenum*;

В качестве биоцида (ингибитора) роста культур применялся модификатор в виде ДММ марки «Аквивон-ТМ», ТУ 2499-024-87552538-12.

Модификатор марки «Аквивон-ТМ» вносили в концентрации 0,5; 1,0; 2,0% в агар, который разливали в чашки Петри по 20 мл. После его застывания сверлом с диаметром отверстия 7 мм делали лунки, в которые вносили агаровый блочок с чистой культурой.

Чистые культуры микроорганизмов получали на твердой агаровой среде МПА, Сабуро (использовали суточные культуры бактерий и трехсуточные культуры грибов).

Опыт проводился в трехкратной повторности. Каждые сутки в течение 6 дней измеряли диаметр зоны роста микроорганизмов. Контролем являлся рост культур на агаровой среде без модификатора «Аквивон-ТМ».

Кинетические кривые роста бактерий и микроскопических грибов, имеющие S-образную форму, приведены на рис. 1-5.

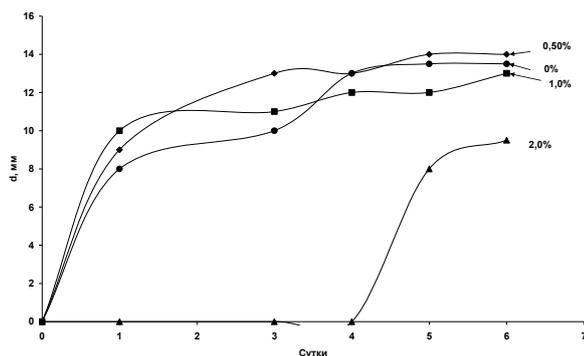


Рис. 1 - Рост *E.coli* в агаризованной среде с различной концентрацией ДММ марки «Аквивон-ТМ»

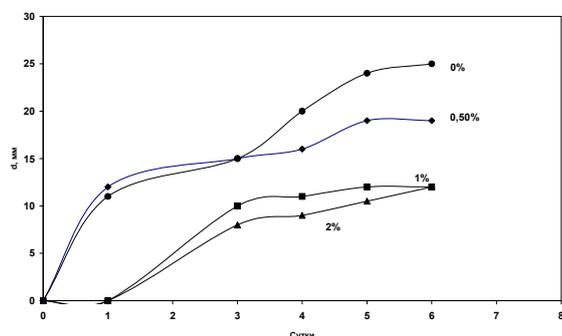


Рис. 2 - Рост *Bacillus mycoides* в агаризованной среде с различной концентрацией ДММ марки «Аквивон-ТМ»

Нами ранее был показан, с использованием логистической функции [33], метод анализа кинетических кривых роста микробальной культуры, сводящийся к определению константы

скорости роста K_c в присутствии разных концентраций биоцидов [34] и его применение [35,36]. Эти константы практически не зависят от концентрации биоцидов и рассчитываются из значений скоростей роста культур в присутствии разных количеств добавки и контроля (без добавки), описывающие начальную и стационарную стадии микробального роста, позволяющие установить ряд активности влияния добавки на рост бактерий и грибов.

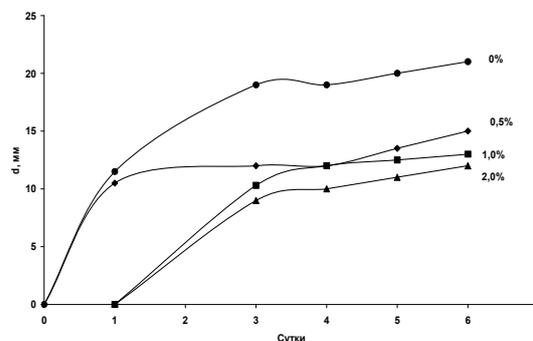


Рис. 3 - Рост *Micrococcus flavus* в агаризованной среде с различной концентрацией ДММ марки «Аквивон-ТМ»

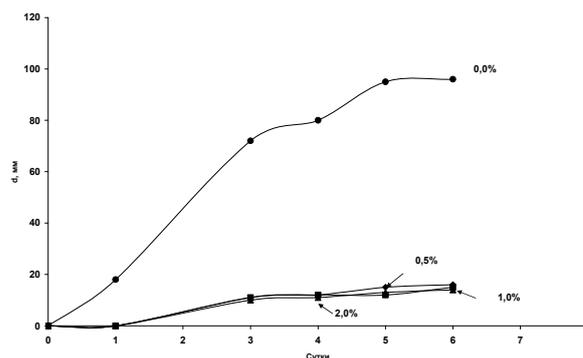


Рис. 4 - Рост *Aspergillus niger* в агаризованной среде с различной концентрацией ДММ марки «Аквивон-ТМ»

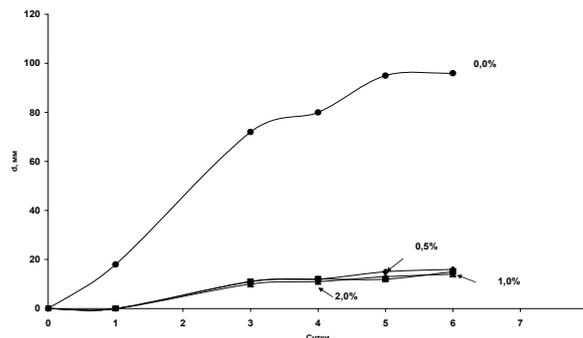


Рис. 5 - Рост *Penicillium chrysogenum* в агаризованной среде с различной концентрацией ДММ марки «Аквивон-ТМ»

Известно, что большинство ферментативных реакций, а также эффективная константа скорости роста грибной колонии в присутствии биоцидов описываются следующим математическим выражением:

$$b_i = b_0 \cdot K_c / (K_c + C), \quad (1)$$

где b_i – эффективная константа скорости роста грибной колонии в присутствии биоцида, b_0 – эффективная константа скорости роста грибной колонии в отсутствие биоцида, C – концентрация биоцида, K_c – константа, количественно равная концентрации биоцида, при которой $b_i = b_0/2$ и может использоваться для установления активности биоцида.

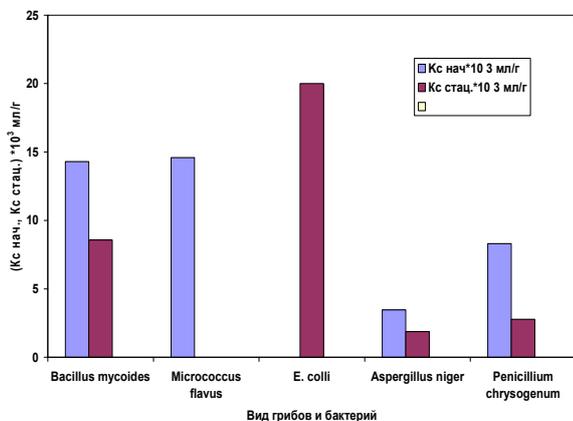


Рис. 6 - Гистограмма констант начального и стационарного роста микроскопических грибов и бактерий в присутствии НЧС

Чем меньше значения K_c , тем сильнее проявляется биоцидный эффект. Как видно из рис. 6 добавка НЧ серебра существенно подавляет рост и на начальной и на стационарной стадиях роста *Aspergillus niger* и *Penicillium chrysogenum*.

Ингибирование роста бактерий проявляется в увеличении периода индукции (лаг-фазы) (табл. 2).

Добавка НЧ серебра существенно удлиняет лаг-фазу В случае роста *E. coli* (рис.1) лаг фаза достигает 4 сут. при максимальной концентрации -2 % содержания в агаре НЧ серебра в качестве ингибитора роста бактерии, в то время как для двух бактериальных культур *Bacillus mycooides* (рис.2) и *Micrococcus flavus* (рис.3) величина пороговой концентрации ингибитора составляет 1,0%.

Таблица 2 - Значения индукционного периода (сут.) роста микроскопических грибов и бактерий в присутствии разных концентраций НЧ серебра

Тест-Организм	Концентрация НЧ серебра			
	0%	0,5%	1%	2%
<i>Bacillus mycooides</i>	0	0	1	1
<i>Micrococcus Flavus</i>	0	0	1	1
<i>E. coli</i>	0	0	0	4
<i>Aspergillus niger</i>	0	1	1	1
<i>Penicillium chrysogenum</i>	0	1	1	1

Иная картина ингибированного роста наблюдается для микроскопических грибов *Aspergillus niger*

(рис.4) и *Penicillium chrysogenum* (рис.5), когда подавление роста начинается при концентрации 0,5 % НЧ серебра и в первые сутки достигается равновесное значение роста. Эти результаты, прежде всего, указывают на разные механизмы действия ингибиторов на класс микроорганизмов. На рис. 6 приведена гистограмма констант начального и стационарного роста микроскопических грибов и бактерий.

Из полученных результатов следует, что НЧ серебра резко тормозят рост микроскопических грибов. При этом предельное значение биомассы грибов понижается в 2,5 – 5 раз (рис.2,3), и не наблюдается концентрационной зависимости кривой ее роста, в то время когда в случае роста на агаре бактерий, наблюдается постепенное торможение их роста при добавлении небольших концентрациях НЧ серебра. В случае роста на агаре *E. coli* ингибирующее действие НЧ серебра проявляется только при добавлении 2% раствора ДММ марки «Аквивон-ТМ». По – видимому разрушающее действие НЧ серебра протекает по двум механизмам: электрохимическому, связанному с накоплением зарядов на поверхности мембраны клетки и свободно-радикальному, когда высвобождаются свободные радикалы. Как известно катион-содержащие ПАВ ускоряют распад гидропероксидов с образованием свободных радикалов. Гидропероксиды – первичные продукты окисления многих органических веществ молекулярным кислородом, самопроизвольно образуются в материалах и продуктах, а также в ходе биохимических процессов в живых организмах. Совместное действие катионных ПАВ и соединений металлов (гомогенных катализаторов окисления углеводородов) носит синергетический характер. Полученные при распаде пероксида радикалы диффундируют в мембраны клетки, разрушая ее целостность. В случае торможения роста микроскопических грибов превалирует механизм свободно-радикального разрушения, так как мы не наблюдаем концентрационной зависимости, в то время как в случае воздействия на бактерии превалирует электрохимический механизм, наблюдается концентрационная зависимость подавления роста бактерий.

Выводы

Изложены экспериментальные результаты исследований по разработке и созданию нового поколения модифицирующих составов с введением в них НЧ серебра, применяемых в перспективных технологиях, составах различных веществ и материалов для придания им новых биологических, физико-химических свойств и технических характеристик. Рассмотрен возможный механизм воздействия НЧ серебра на микроскопические грибы и бактерии.

Литература

1. G. Zhao, Jr. S.E. Stevens, Biometals, 11, 27-32 (1998);
2. F.Furno, K.S. Morley, B.Wong, B.L. Sharp, P.L. Arnold, S.M. Howdle et al., J. Antimicrob. Chemother., 54, 1019-1024 (2004);
3. Jun Sung Kim, Eunye Kuk, KyeongNamYu, Jong Lee, So Hyun Kim, Young Kyung Park, Yong Kyung Park, Cheol-Yong Hwang, Yong-Kwon Kim, Yoon-Sik Lee, Dae Hong

- Jeong, Myung-Haing Cho, Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, **3**, 1, 95-101 (2007);
4. C. Aymonier, U. Schlotterbeck, L. Antonietti, Ph. Zacharias, R. Thomann, J. C. Tiller, S. Mecking, Chem. Commun., **8**, 24, 3018-3019 (2002);
 5. Е.В. Анищенко, Г.В. Лямина, Н. М. Коршикова, Г.М. Мокроусов, Изв. ТПУ, **309**,1, (2006);
 6. T. Hamouda, A. Mус, B. Danovan, A. Shih, J. D. Reuter, Jr. J. R. Baker, Microbiol. Res. **156**, 1-7 (2000);
 7. P. Dibrov, J. Dzioba, K.K. Gosink, C.C. Hase, Antimicrob. Agents Chemother. **46**, 2668-2670 (2002);
 8. I. Dragieva, S. Stoeva, P. Stoimenov, E. Pavlikianov, K. Klabunde, Nanostruct. Mater. , **12**, 267-270 (1999);
 9. I. Sondi, B. Salopek-Sondi, J. Colloid. Interface. Sci., **275**, 177-182 (2004);
 10. N.A. Amro, L.P. Kotra, K. Wadu-Mesthrige, A. Bulychev, S. Mobashery, G. Liu, Langmuir, **16**, 2789-2796 (2000);
 11. M. Danilczuk, A. Lund, J. Saldo, H. Yamada, J. Michalik, Spectrochimica Acta Part A, **63**, 189-191 (2006);
 12. P.K. Stoimenov, R.L. Klinger, G.L. Marchin, K.J. Klabunde, Langmuir, **18**, 6679 (2002);
 13. Q.L. Feng, J. Wu, G. Q. Chen, F. Z. Cui, T. M. Kim, J.O. Kim, J. Biomed. Mater. Res., **52**, 662 (2000);
 14. J. A. Spadaro, t. J. Berger, S. D. Barranco, S. E. Chapin, R. O. Becker, Microb. Agents Chemother., **6**, 637 (1974);
 15. О.Т. Касаикина, З.С. Каргашева, Л.М. Писаренко, Ж. общ. хим., **78**, 8, 1298-1309 (2008);
 16. О.Т. Касаикина, А.А.Голявин, Д.А.Кругов, З.С.Каргашева, Л.М.Писаренко, Вестник МГУ.сер. хим., **3**, с.246-250 (2010);
 17. Е.А. Менгеле, З.С. Каргашева, И.Г. Плащина, О.Т. Касаикина, Кол.жур., **70**, 6, 805-811 (2008);
 18. О.Т. Касаикина, V.D. Kortenska, Z.S. Kartasheva et. al., Colloid and Surface, A, Physicochemistry and Engineering, **149**, 29 (1999);
 19. А.А. Кореневский , В.В. Сорокин, Г.И. Каравайко, Микробиология, **62**, 6, 1085-1092 (1993);
 20. Woo Kyung Jung, Hye Cheong Koo, Ki Woo Kim, Sook Shin, So Hyun Kim, and Yong Ho Park, Appl. and Environmental Microbiology, **74**, 7, 2171-2178 (2008);
 21. Zhang S. And Crow S.A. Jr. Applied and Environmental Microbiology, **67**, 9, 4030-4035(2001).
 22. Е. М Егорова, А.А. Ревина, Т.Н. Ростовщикова, О.И. Киселева, Вестник МГУ, сер. 2, Химия, **42**, 332-338.(2001);
 23. A.P. Kumar, D. Depan, N.S. Tomer, R.P. Singh, Progress in polymer science, **34**, 6, 479-515 (2009);
 24. M.M. Reddy, M. Deghton, R.K. Gupta, S.N. Bhat-acharya, R. Parthasaraty J. of Appl. Polym. Sci., **111**, 3, 1426-1432. (2009);
 25. K. Z. Gumargalieva, I. G. Kalinina, S. A. Semenov, G. E. Zaikov, L. A. Zimina, M. I. Artsis, RFP intern., **6**, 2, 114-120(2011);
 26. И.Г. Калинина, К.З. Гумаргалиева, О.Н. Кузнецова, Г.Е. Заиков, Вестник Казанск. технол. Ун-та, **15**, 12, 115-119 (2012);
 - 27.Калинина И.Г., Белов Г.П., Гумаргалиева К.З., Петрунок Ю.С., Семенов, С.А. Химич. физика, **30**, 2, 70-79 (2011);
 28. С.Н. Миронова, А.А. Малама, Т.В. Филимонова, Ю.В. Моисеев, К.З. Гумаргалиева, С.А. Семенов, В.П. Мионов, Л.Е. Грушевич, Докл. АН БССР, **34**, 6, 228-560 (1985);
 - 29.К.З. Гумаргалиева, И.Г. Калинина, Полимерные материалы, 7-8, 58-62 (2010);
 30. К.З. Гумаргалиева, И.Г. Калинина, Полимерные материалы, 10, 18-24 (2010);
 31. ГОСТ 9.048-89. ЕСЗКС Изделия технические. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов;
 32. ГОСТ 9.049-91. Материалы полимерные и их компоненты. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов (метод 3);
 33. Н.М. Эммануэль, Кинетика экспериментальных опухольных процессов. Наука, Москва, 1977. 354 с.;
 34. К.З. Гумаргалиева, И.Г. Калинина, С.Н. Миронова, С.А. Семенов, Микробиология, **57**, 5, 879-882 (1988);
 35. K. Z. Gumargalieva, G. E. Zaikov, Biodegradation and Biodeterioration of Polymers: Kinetical Aspects. Nova Science Publishers. Inc. Commack, New York, 1998. 409 P;
 36. K. Z. Gumargalieva, I. G.Kalinina, G.E. Zaikov, S. A. Semenov, A. I. Ryzhkov, Chem. Phys. Reports, **15**, 10, 1463 -1476(1996).

© **В. П. Герасименя** – засл. деятель науки РФ, акад. АВН РФ, д-р техн. наук, проф., зам. дир. по науке ООО «ИНБИО-ФАРМ»; **К. З. Гумаргалиева** – д-р хим. наук, проф., зав. лаб., Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН; **С. В.Захаров** – канд. техн. наук, ген. дир. ООО «ИНБИОФАРМ»; **М. А. Клыков** - канд. хим. наук, зав. отделом бионанотехнологии ООО ИНБИОФАРМ; **И. Г. Калинина** - канд. хим. наук, с.н.с Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН; **С. А. Семенов** – д-р техн. наук, Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН; **Д. Р. Хузаханова** – студент каф. технологии пластических масс КНИТУ; **Г. Е. Заиков** - д-р хим. наук, гл.науч. сотр., проф. Института биохимической физики им. Н.М.Эммануэля РАН, ov_stoyanov@mail.ru.