

Сравнительная оценка спектральных характеристик и биологической активности ацетоновых экстрактов каучуков медицинского назначения и их влияния на морфологию колоний тест-культур

© Е.Н. Ригер,^{1,2} И.М. Цыпкина,¹ А.Ю. Грозеску,¹ Т.Е. Суханова,¹ Л.М. Попова^{1,2}

¹ Научно-исследовательский институт синтетического каучука им. акад. С.В. Лебедева, 198035 Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 194021 Санкт-Петербург, Россия

e-mail: catherine.riger@yandex.ru; tat_sukhanova@bk.ru

Поступило в Редакцию 28 февраля 2024 г.

В окончательной редакции 26 июня 2024 г.

Принято к публикации 26 июня 2024 г.

Методом экстрагирования на аппарате Сокслета получены ацетоновые экстракты различных марок натуральных и синтетических *цис*-1,4-изопреновых каучуков. Проведен анализ влияния полученных экстрактов различных концентраций в диапазоне от 1 до 50 mg/ml на размеры зоны ингибирования роста колоний тест-культур. Методом ИК спектроскопии НПВО установлено, что экстракты исследованных каучуков имеют разный состав и содержат различное количество стеариновой, олеиновой и линолевой кислот, белков и ферментов. Показано, что наибольшим ингибирующим действием в отношении дрожжей *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 обладают экстракты синтетического изопренового каучука марки СКИ-5 ПМ (ПМ — пищевой медицинский), и что эти экстракты обладают максимальной скоростью подавления роста (1.2 ± 0.1 mm/day) широко распространенных плесневых грибов *Aspergillus niger* по сравнению с экстрактами натуральных каучуков.

Ключевые слова: натуральный и синтетические *цис*-1,4-изопреновые каучуки, ацетоновые экстракты, ИК спектроскопия, биологическая активность, морфология тест-культур, антибактериальные и фунгицидные свойства.

DOI: 10.61011/JTF.2024.09.58670.58-24

Введение

Диапазон использования каучуков различных марок в области медицины ограничивается содержанием в них вредных примесей и/или веществ, обладающих опасными для организма свойствами, в том числе, канцерогенными. Установлено, например, что латексные перчатки из натурального каучука (НК) негативно влияют на кожные покровы человека, значительное количество белков в составе латекса провоцирует развитие аллергии или экземы. Кроме того, НК может содержать N-паранитрозоамины, способные вызывать онкологические заболевания [1]. При получении синтетических изопреновых каучуков использование каталитической системы на основе редкоземельных металлов группы лантана обеспечивает отсутствие олигомеров в их составе, что делает синтетические каучуки (СК) безопасными для применения в медицинской и пищевой промышленности.

Каучуки нового поколения — „экологически чистые“ каучуки — предназначенные для использования в медицинской и пищевой промышленности, выпускаются в России в соответствии со специально разработанными техническими требованиями и подлежат обязательной сертификации [2]. При этом каучуки медицинского назначения должны обладать широким спектром биоло-

гической активности [3]. Тем не менее литературные данные по антимикробным и фунгицидным свойствам каучуков различного происхождения практически отсутствуют.

Необходимо отметить, что производственная отрасль СК России на 90% обеспечивает нашу страну собственной продукцией [4].

В настоящее время одной из основных тенденций производства каучуков и резин медицинского и пищевого назначения является поиск безопасных составов, в которых не содержатся токсичные масла и вещества, обладающие канцерогенными свойствами. Ввиду отсутствия возможности выращивать в достаточном количестве в нашей стране каучуконосы, вопрос замены НК путем создания синтетических аналогов является чрезвычайно актуальным для отечественной промышленности [5]. В отличие от СК, НК имеет ряд существенных недостатков, а именно ввиду климатических особенностей, территории, способа выделения и некоторых других факторов НК разных производителей имеют переменный состав и нестабильные свойства [6].

Целью настоящей работы было получение ацетоновых экстрактов каучуков медицинского назначения, сравнительное исследование и идентификация исходных каучуков, а также выделенных из них продуктов экстракции,

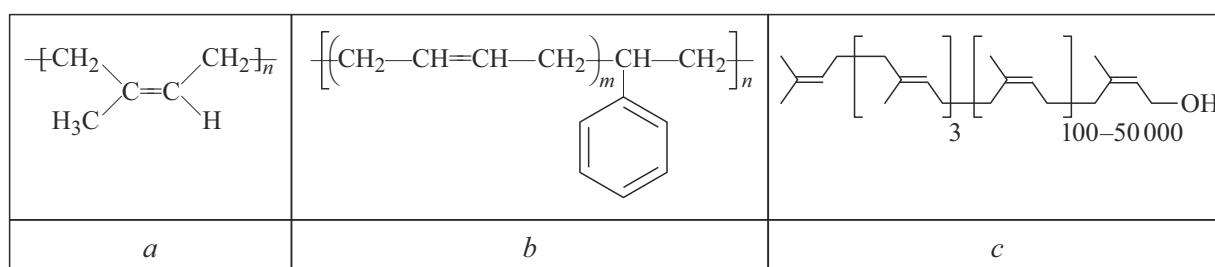


Рис. 1. Структурные формулы объектов исследования: *a* — структурная формула каучука СКИ-5 ПМ (*цис*-1,4-изопрена); *b* — структурная формула каучука СКМС-30 АРКМ-27; *c* — структурная формула НК.

с помощью метода ИК спектроскопии, и оценка их антимикробных и фунгицидных свойств в отношении культур бактерий и микромицетов.

Конечным этапом проводимых исследований являлось установление возможности замены импортного натурального каучука в изделиях медицинской и пищевой промышленности отечественными синтетическими аналогами.

Следует отметить, что так называемый ацетоновый экстракт представляет собой совокупность веществ, извлекаемых ацетоном из каучуков, он состоит из олеиновой, стеариновой, линолевой кислот, и их эфиров, фосфолипидов, каротина и др. [5,6].

1. Экспериментальная часть

1.1. Материалы

В качестве объектов исследования в работе использовали ацетоновые экстракты СК марок СКИ-5 ПМ (*цис*-1,4-изопреновый пищевой медицинский каучук) и СКМС-30 АРКМ-27 (бутадиен- α -метил-стирольный каучук, ОАО „Синтез-Каучук“, Стерлитамак, Россия).

СКИ-5 ПМ получен методом полимеризации изопрена на неодимовом катализаторе в соответствии с ТУ 2294-051-16810126-2004 [7]. Содержание *цис*-1,4-звеньев — не менее 96%. Структурная формула *цис*-1,4-изопрена приведена на рис. 1, *a*.

Бутадиен-стирольный каучук СКМС-30 АРКМ-27 — продукт низкотемпературной эмульсионной сополимеризации бутадиена-1,3 и стирола — наиболее распространенный тип каучуков общего назначения [8]. Структурная формула приведена на рис. 1, *b*.

НК является уникальным продуктом растительного происхождения, представляющим собой *цис*-1,4 полиизопрен. Структура молекул НК изображена на рис. 1, *c*. НК представляет собой биополимер, начинающийся с диметилаллильной группы, за которой сначала следует три мономерных остатка с транс-С=С-связью, далее располагаются от 100 до 50 000 мономерных остатков с *цис*-С=С-связью, а на конце молекул находится терминирующая гидроксигруппа [5]. В макромолекуле НК 98–100% звеньев изопрена присоединены в положении *цис*-1,4.

До начала 30-х годов прошлого столетия они были основным сырьем для производства резиновых изделий с высокой степенью эластичности. И в настоящее время в производстве высококачественных и специальных шин и резинотехнических изделий, в том числе для военной техники, используется НК из гевеи [5]. Более того, НК относится к низкотоксичным материалам, что обуславливает его широкое использование в изделиях пищевой и медицинской отрасли [3,4].

НК образуется в процессе жизнедеятельности клеток каучуконосных растений, а латекс является цитоплазмой для осуществления биосинтеза каучука [5]. Уникальность свойств НК обусловлена присутствием в его составе, кроме *цис*-1,4-изопрена (до 96 weight%), некаучуковых компонентов, а именно природных белковых фрагментов, химически связанных с макромолекулами биополимера, ацетонового экстракта, и некоторых других составляющих [5]. Известно, что латекс содержит белок (до 5 weight%) [5], который оказывает значительное влияние на свойства НК. В процессе выделения НК из латекса, совместно с процессом денатурации, часть белка осаждается вместе с каучуком. В работе [9] методом электрофоретического разделения белков каучука из ряда растений (SDS-гель-электрофорез) было установлено, что НК из гевеи содержит более 15 мажорных и минорных белков. Расчеты соотношения белков к каучуку показали, что у гевеи на 1 г сухого веса каучука приходится более 9 мг белков.

В качестве объектов сравнения для оценки биологической активности ацетоновых экстрактов каучуков различного происхождения были выбраны два натуральных каучука марок CVL-20 и SVR-10 (Viet Phu Think Rubber Joint Stock Company, Вьетнам) с различным содержанием примесей (10 и 20 weight% соответственно). Торговые группы каучуков SV и CV — стандартные сорта с постоянной вязкостью, L — сорта с пониженной цветностью.

1.2. Приготовление экстрактов каучуков

Операцию экстрагирования проводили на аппарате Сокслета АСВ-6М (ООО „Вилитек“, Россия) согласно ГОСТ ISO 1407-2013 [10]. Данный прибор позволяет

Таблица 1. Названия и характеристики тест-культур

Название микроорганизмов	Вид микроорганизмов	Патогенность
<i>Escherichia coli</i>	Грамотрицательные палочковидные бактерии	Не патогены, присутствуют в нижней части кишечника теплокровных животных и человека, способны вызывать тяжелые пищевые отравления
<i>Bacillus subtilis</i>	Грамположительные спорообразующие аэробные почвенные бактерии	Не патогены, используются в ряде лекарств и продуктов для ветеринарии и сельского хозяйства
<i>Alternaria alternata</i>	Вид спорообразующих (аскомицетных, сумчатых) плесневых грибов	Патогены растений, животных и человека (вызывают аллергию), споры присутствуют в почве, воде и на поверхности технических объектов и помещений
<i>Aspergillus niger</i>	Вид высших плесневых грибов, относится к классу сумчатых грибов (<i>Ascomycetes</i>)	Сильные патогены (проникают внутрь организма и поражает дыхательную и центральную нервную систему, пищеварительный тракт, кожу, органы чувств и половую систему)
<i>Penicillium spp</i>	Вид грибов из класса дейтеромицетов или несовершенных грибов (<i>Deuteromycota</i>)	Слабые патогены, обитают в почве и на поверхности субстратов растительного происхождения
<i>Rhodotorula rubra</i>	Аспорогенные дрожжевые грибы, относящиеся к семейству <i>Cryptococcaceae</i>	Патогены, грибы могут присутствовать на коже и на ногтях как сапрофит, может колонизировать респираторный и мочевыделительный тракты
<i>Candida tropicalis</i>	Дрожжеподобные грибы, вызывающие урогенитальные кандидозы	Патогены, входят в состав нормальной микрофлоры рта, влагалища и толстой кишки большинства здоровых людей
<i>Saccharomyces boulardii</i> CNCM I-745	Вид дрожжей	Не патогены, продуцируют белки, ингибирующие патогенные бактерии и их токсины

проводить экстракцию с периодической промывкой пробы определенным растворителем. В качестве растворителя использовали ацетон в соответствии с ГОСТ 24919-91 [11]. Степень чистоты использованного ацетона (99.9%) проверяли методом газовой хроматографии на приборе Clarus 500 (PerkinElmer, США). Каждую пробу каучука массой $m_n = 3.00 \pm 0.01$ g растворяли в 50 ml ацетона. Экстракцию проводили в течение 16 h.

Удаление ацетона из полученного экстракта проводили на роторном испарителе модели EV311VAC (PrimeLab, Россия) при $60 \pm 5^\circ\text{C}$.

1.3. Тест-микроорганизмы

В табл. 1 представлены микроорганизмы, использованные для определения антибактериальных свойств данных реагентов.

Культуры грибов и бактерий были предоставлены музеем кафедры Технологии микробиологического синтеза СПбГТИ (ТУ).

1.4. Методы исследования

1.4.1. Биологические испытания экстрактов каучуков

Качественный диско-диффузионный метод (ДДМ) определения антибактериальной активности основан на методических указаниях, описывающих стандартные методы определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам — методы серийных разведений и ДДМ (МУК 4.2.1890–04 „Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам“) [12].

В ДДМ в качестве носителя исследуемого реагента — ацетонового экстракта каучука — использовали стерильный бумажный диск диаметром 1.5 cm, изготовленный из фильтровальной бумаги. Предварительно пропитанный испытуемым раствором экстракта в количестве 0.1 ml один бумажный диск вносили в центр чашки Петри. В качестве контроля использовали диски, смоченные растворителем (дистиллированной водой). Затем чашки

Таблица 2. Виды использованных микроорганизмов и условия их культивирования

Названия использованных микроорганизмов	Метод исследования	Питательная среда	Температура инкубирования, °С	Продолжительность инкубирования, h
Дрожжи				
<i>Candida tropicalis</i>	ДДМ	Сабуро	33	48
<i>Rhodotorula rubra</i>				
<i>Saccharomyces boulardii CNCM I-745</i>				
Бактерии				
<i>Escherichia coli</i>	ДДМ	ГМФ	37	24
<i>Bacillus subtilis</i>				
Грибы				
<i>Alternaria alternate</i>	Измерения размера колонии гриба при росте на питательной среде, в которую вносили экстракт определенной концентрации	Сабуро	26–28	192
<i>Aspergillus niger</i>				72
<i>Penicillium spp.</i>				120

Таблица 3. Характеристики использованных питательных сред

Название	„Питательная среда № 2 ГРМ (САБУРО)“ по ТУ 9398-002-78095326-2006	ГМФ-агар
Описание	Мелкодисперсный гигроскопичный порошок	Питательный агар для культивирования микроорганизмов, сухой на основе гидролизата говяжьего ферментативного мяса, представляет собой мелкодисперсный, гигроскопичный порошок желтого цвета
Состав, g/l	Панкреатический гидролизат рыбной муки — 10,0; панкреатический гидролизат казеина — 10,0; дрожжевой экстракт — 2,0; натрия фосфат однозамещенный — 2,0, глюкоза — 40,0, агар микробиологический — 7,0	ГМФ-основа — 15,0; натрий хлористый — 9,0; агар микробиологический — от 12,0 до 15,0
Назначение	Для выращивания и подсчета общего числа дрожжевых и плесневых грибов при контроле микробной загрязненности нестерильных лекарственных средств	Для выделения, культивирования и идентификации различных микроорганизмов, включая: энтеробактерии, синегнойную палочку, стафилококки

Петри помещали в термостат для культивирования тест-микроорганизмов, условия культивирования приведены в табл. 2. Диффузия исследуемого экстракта с диска в питательную среду приводила к образованию зоны подавления (ингибирования) роста тест-микроорганизмов. Регистрация диаметра зоны ингибирования роста вокруг диска позволяла определить биологическую активность препарата.

Зону подавления роста микроорганизмов определяли с помощью измерительной линейки. Все опыты проводились в трех повторностях.

В настоящей работе использовали сухие питательные среды (табл. 3): питательную среду № 2 ГРМ (Сабуро)

и питательную среду гексаметафосфат-агар (ГМФ-агар), преимуществами которых являются высокая чувствительность, большой срок хранения и простота приготовления.

Приготовление питательной среды осуществлялось нестандартным способом: после приготовления питательную среду разливали в пробирки по 10 ml, вносили экстракт определенной концентрации, укупоривали и кипятили на водяной бане 2–3 раза по 40 min. Затем содержимое пробирок выливали на поверхность чашки Петри. После застывания питательной среды проводили инокуляцию спор плесневых грибов путем „укола“ иглой. В работе степень влияния исследуемых экстрактов

на плесневые грибы оценивали с помощью метода определения размера колонии гриба на питательной среде, в которую предварительно вносили экстракт.

1.4.2. ИК спектроскопические исследования экстрактов каучуков

Регистрацию ИК спектров проводили на инфракрасном фурье-спектрометре Spectrum 100 (PerkinElmer, США), оснащенный приставкой нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) с алмазным кристаллом. Спектральный диапазон регистрации 4000–600 cm^{-1} , разрешение — 0.5 cm^{-1} , число сканирований — 4. Перед регистрацией ИК спектров образцы помещали на сутки под ИК лампу для удаления растворителя, затем получали спектры высушенных экстрактов каучуков и исходных каучуков.

1.4.3. Метод расчета биологической активности в программе PASS-online

Для прогнозирования спектра вероятной биологической активности компонентов, входящих в состав натуральных и синтетических каучуков, была использована программа PASS-online, функционирующая с 2000 г. как свободно доступный веб-ресурс [13], в котором описание структуры молекул органического соединения реализовано посредством дескрипторов атомных окрестностей MNA (Multilevel Neighborhoods of Atoms) и алгоритма на основе „наивного байесовского подхода“. Эта программа позволяет выявлять взаимосвязи структура–активность между классами различных активных и неактивных соединений. Создатели программы отмечают, что алгоритм прогноза PASS-online характеризуется статистической устойчивостью, которая обеспечивает наиболее вероятные оценки спектров биологической активности для новых соединений. Современная версия компьютерной программы PASS-online позволяет прогнозировать более пяти тысяч видов биологической активности.

2. Результаты и обсуждение

Медицинские и пищевые резины на основе натуральных и синтетических каучуков, разрешенных органами здравоохранения для изготовления изделий медицинского назначения или контактирующих с продуктами питания, должны обладать комплексом специфических свойств, обусловленным их назначением, в том числе широким спектром биологической активности [3].

2.1. Исследование фунгицидных свойств ацетоновых экстрактов каучуков

2.1.1. Оценка фунгицидных свойств экстрактов каучуков в отношении тест-культур дрожжей

Наилучшие результаты в отношении ингибирования роста дрожжей *Candida tropicalis*, обладающих специфическими характеристиками (в состав клеточной стенки входят хитин и глюкан, влияющие на структуру дрожжевой клетки [14]), показали экстракты СК, концентрацию которых варьировали от 0.1 до 50 mg/ml . Практически во всех случаях наблюдается дозозависимая активность полученных экстрактов в отношении использованных тест-культур (табл. 4). Для экстракта СК марки СКМС-30 АРКМ-27 наибольшая зона подавления роста дрожжей *Candida tropicalis* соответствовала концентрации, равной 1 mg/ml . Далее при повышении концентрации экстракта не наблюдалось роста зоны подавления.

Изображения на рис. 2, *a, b* подтверждают, что значения концентрации экстракта каучука оказывают существенное влияние на рост тестерных штаммов. Так, с увеличением концентрации экстракта СКИ-5, ПМ культура дрожжей *Candida tropicalis* образует более выраженную зону ингибирования роста — размеры зоны увеличиваются примерно в 4 раза при изменении концентрации экстракта от 1 до 50 mg/ml (табл. 4), что связано с наличием в составе экстракта примесей, обладающих противокандидозными свойствами [15]. Максимальные размеры зоны ингибирования — порядка 11 mm — обнаружены в случае использования экстракта каучука марки СКМС-30 АРКМ-27, причем размеры зоны не зависят от концентрации экстракта. Это может быть вызвано высоким содержанием масла-пластификатора TDAE в составе этого каучука. В контрольном образце (рис. 2, *c*) экстракт каучука отсутствует.

На фотографиях (рис. 2, *d, e*) наблюдаются изолированные почкующиеся грибки *Saccharomyces boulardii*. Увеличение зоны ингибирования роста культуры свидетельствует о наличии фунгицидных свойств экстракта каучука СКИ-5 ПМ (табл. 5, 6). В составе контрольного раствора (рис. 2, *f*) экстракт отсутствует.

Дрожжи *Rhodotorula rubra* обычно находятся на поверхности кожи и слизистых оболочках организма человека, их легко идентифицировать визуально по ярко выраженным оранжевым колониям (рис. 2, *h*, контроль). Как показали наши микробиологические и морфологические исследования, экстракты и НК, и СК проявляют фунгицидные свойства в отношении данного штамма, поскольку при добавлении экстрактов различных каучуков рост культуры полностью подавляется (рис. 2, *g*).

Сравнение результатов, полученных разными методами, показывает, что ДДМ является более наглядным для определения микробиологической активности соединений, при этом на основании данных, представленных в табл. 5 и 6, наблюдается одна и та же зависимость: с увеличением концентрации экстракт-

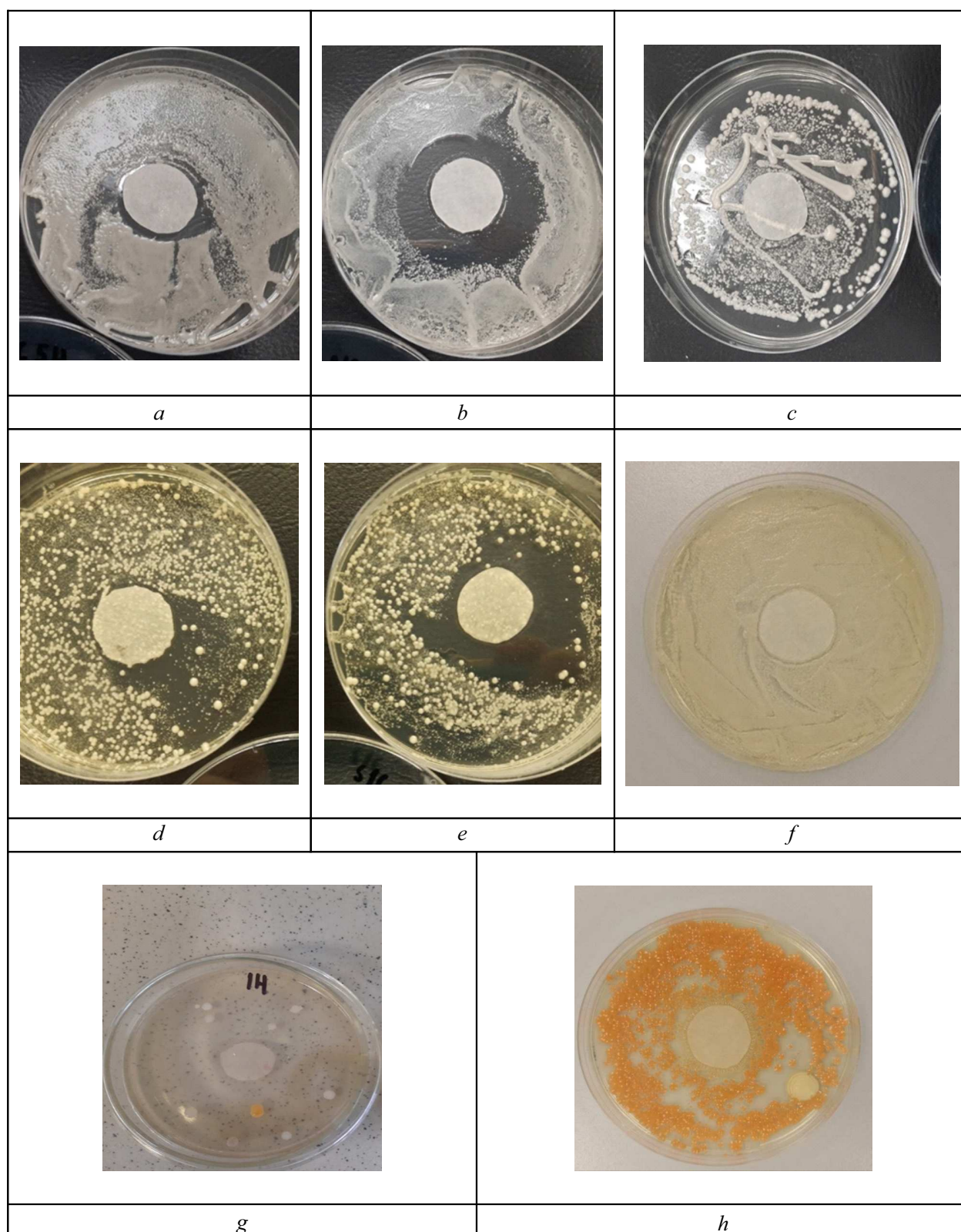


Рис. 2. Действие полученных экстрактов каучука СКИ-5 ПМ на культуру дрожжей *Candida tropicalis*: *a* — раствор с концентрацией экстракта 5 mg/ml; *b* — раствор с концентрацией экстракта 50 mg/ml; *c* — контроль. Действие полученных экстрактов каучука СКИ-5 ПМ на культуру *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745: *d* — раствор с концентрацией экстракта 5 mg/ml; *e* — раствор с концентрацией экстракта 50 mg/ml; *f* — контроль. Действие экстракта каучука СКИ-5 ПМ на культуру *Rhodotorula rubra*: *g* — раствор с концентрацией экстракта 5 mg/ml; *h* — контроль. Все измерения выполнены спустя 48 h.

Таблица 4. Зона подавления роста дрожжей *Candida tropicalis* экстрактами каучуков (ДДМ)

Образцы	Концентрация экстрактов, mg/ml					
	0.1	1	5	10	30	50
	Размер зоны ингибирования, mm					
Экстракт НК SVR-10	–	–	–	1.5 ± 0.2	3.0 ± 0.4	5.0 ± 0.3
Экстракт СК марки СКИ-5 ПМ	–	2.0 ± 0.5	5.0 ± 0.4	6.0 ± 0.4	7.5 ± 0.4	8.5 ± 0.5
Экстракт НК CVL-20	4.0 ± 0.2	6.0 ± 0.3	8.0 ± 0.3	8.5 ± 0.4	10.0 ± 0.7	11.0 ± 0.3
Экстракт каучука марки СКМС-30 АРКМ-27	10.0 ± 0.5	11.0 ± 0.3	11.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.6	10.5 ± 0.3

Таблица 5. Зона подавления роста колонии дрожжей *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 экстрактами каучуков (метод „укола“)

Образцы	Концентрация экстрактов, mg/ml		
	5	20	30
	Размер зоны ингибирования, mm		
Экстракт НК марки SVR-10	2.0 ± 0.5	1.0 ± 0.5	–
Экстракт СК марки СКИ-5 ПМ	–	2.0 ± 0.3	3.0 ± 0.5

Таблица 6. Зона подавления роста колонии дрожжей *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 экстрактами каучуков (ДДМ)

Образцы	Концентрация экстрактов, mg/ml						
	0.1	1	5	10	20	30	50
	Размер зоны ингибирования, mm						
Экстракт НК марки SVR-10	9.5 ± 0.5	9.0 ± 0.2	8.5 ± 0.5	8.0 ± 0.6	7.0 ± 0.8	5.0 ± 0.2	4.0 ± 0.5
Экстракт СК марки СКИ-5 ПМ	3.0 ± 0.3	4.5 ± 0.6	5.0 ± 0.4	5.0 ± 0.5	6.0 ± 0.6	7.0 ± 0.4	8.5 ± 0.6
Экстракт НК марки CVL-20	7.0 ± 0.5	9.0 ± 0.6	8.0 ± 0.3	10.0 ± 0.5	11.0 ± 0.4	11.5 ± 0.4	10.0 ± 0.5
Экстракт СК марки СКМС-30 АРКМ-27	7.0 ± 0.4	7.5 ± 0.1	8.0 ± 0.4	11.0 ± 0.1	12.0 ± 0.3	12.5 ± 0.4	13.0 ± 0.7

та НК от 1 до 50 mg/ml зона ингибирования дрожжей *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 уменьшается в 2 раза.

Напротив, в этом же диапазоне концентраций, с увеличением концентрации экстракта СК зона ингибирования увеличивается также в 2 раза, т. е. на основании результатов *in vitro* показано, что ацетоновые экстракты различных марок каучуков проявляют антимикробную и фунгицидную активность в отношении дрожжей *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745.

2.1.2. Оценка фунгицидных свойств экстрактов каучуков в отношении тест-культур грибов

На фотографиях (рис. 3, *a, b*) представлены „заросшие“ чашки Петри с *Aspergillus niger* — наиболее изученной и широко распространенной в повседневной жизни культурой, относящейся к классу сумчатых грибов (*Ascomycetes*). Известно [16,17], что тело гриба состоит

из бесцветных, сильно разветвленных и переплетенных между собой тонких нитей—гиф, образующих мицелий (грибницу). Гифы септированы — разделены поперечными перегородками (септами) на клетки. Диаметр гиф обычно составляет от 3 до 6 μm. Эта культура очень устойчива к воздействиям внешней среды. Колонии „черной плесени“ на стенах сырых помещений — это в основном *Aspergillus niger* в фазе плодоношения, их повреждающее действие связано с продуцированием большого количества органических кислот. Эти колонии крайне опасны, поскольку грибок может проникнуть и поселиться в полости легких человека и вызвать грибковое заболевание, которое называется „легочный аспергиллез“ [16,17].

Наблюдения за динамикой роста плесневых грибов проводились в течение 10 суток с целью определения скорости роста на питательной среде Сабуро и оценки влияния экстрактов НК и СК на рост тестерных штаммов (табл. 7, 8). Состав среды Сабуро обеспечивает

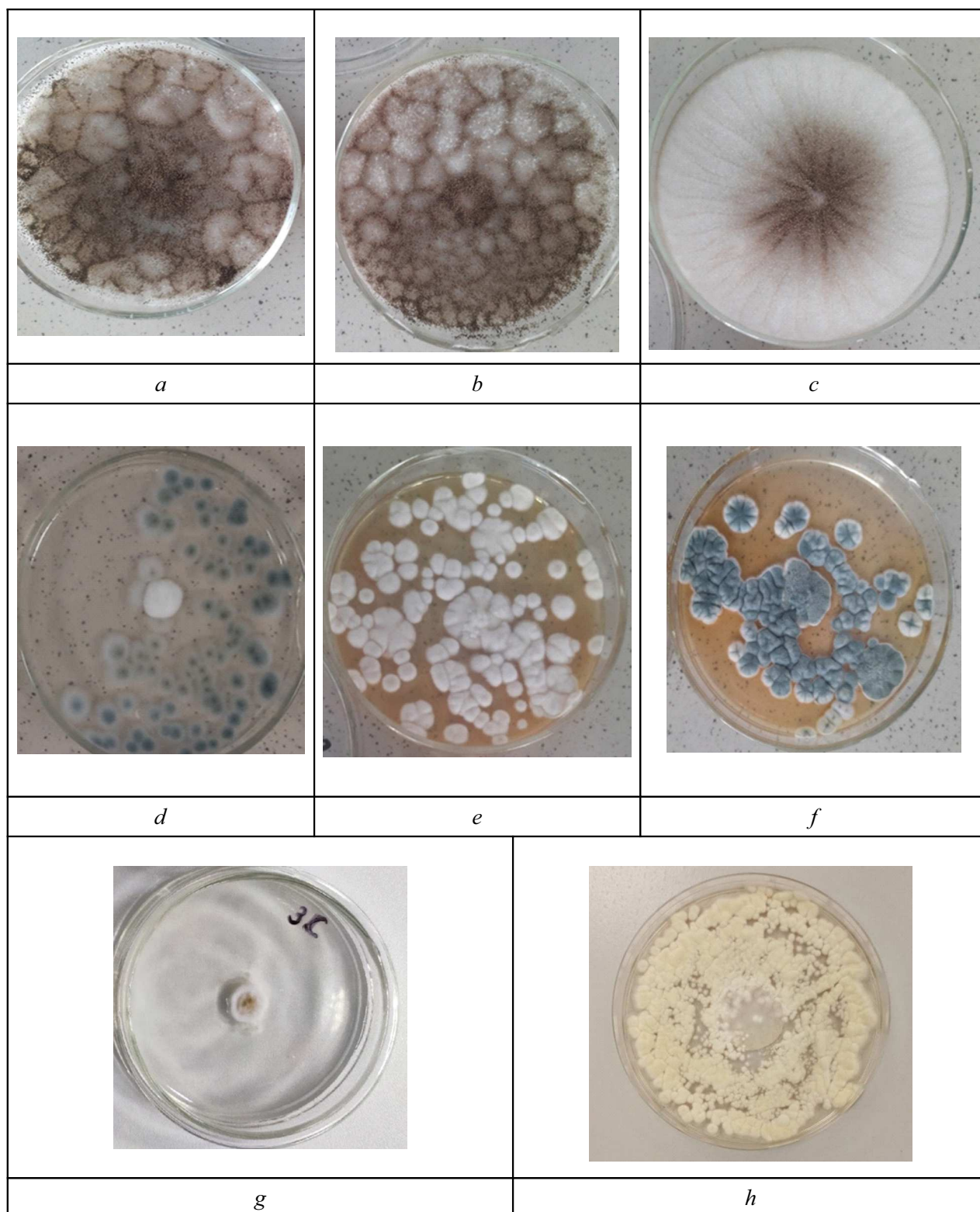


Рис. 3. Действие полученных экстрактов каучука СКИ-5 ПМ на культуру *Aspergillus niger* (измерение выполнено спустя 72 h): *a, b* — растворы с концентрацией экстракта 30 mg/ml; *c* — контроль. Действие полученных экстрактов каучука СКИ-5 ПМ на культуру *Penicillium spp.* (измерение выполнено на 5-е сутки): *d* — раствор с концентрацией экстракта 1 mg/ml; *e* — раствор с концентрацией экстракта 5 mg/ml; *f* — контроль. Действие экстракта каучука СКИ-5 ПМ на культуру *Alternaria alternata* (измерение выполнено на 8-е сутки): *g* — раствор с концентрацией экстракта 0.1 mg/ml; *h* — контроль.

Таблица 7. Размеры колонии грибов *Aspergillus niger* в зависимости от концентрации экстрактов каучуков (метод „укола“)

Образцы	Концентрация экстрактов, mg/ml				
	0.1	1	5	20	30
	Размер колонии, mm				
Экстракт НК марки SVR-10	3.0 ± 0.5	5.0 ± 0.4	6.0 ± 0.4	14.0 ± 0.4	15.0 ± 0.6
Экстракт СК марки СКИ-5 ПМ	9.0 ± 0.3	11.0 ± 0.3	14.0 ± 0.6	16.0 ± 0.5	19.0 ± 0.6
Экстракт НК марки CVL-20	8.0 ± 0.5	10.0 ± 0.5	13.0 ± 0.6	17.0 ± 0.1	20.0 ± 0.5
Экстракт СК марки СКМС-30 АРКМ-27	4.0 ± 0.4	7.0 ± 0.5	10.0 ± 0.3	14.0 ± 0.4	18.0 ± 0.8

Таблица 8. Динамика роста колоний грибов *Aspergillus niger* (метод „укола“)

Образцы	Диаметр колонии, mm		
	3 суток	7 суток	10 суток
СКИ-5 ПМ (C = 0.5 mg/ml)	20	30	52
СКИ-5 ПМ (C = 3 mg/ml)	18	30	50
НК марки SVR-10 (C = 2 mg/ml)	27	48	52
НК марки SVR-10 (C = 3 mg/ml)	29	45	56

четкие морфологические признаки. Спорообразующие пушистые колонии локализуются „уплотненно“ и имеют разные цветовые оттенки — от белого до темно-коричневого. Мицелий формирует перегородки, образуя многочисленные „участки“ с высокой плотностью „заселения“ диаметром от 3 до 11 mm (рис. 3, a, b). В свою очередь, контрольный образец характеризуется радиальным характером роста спорообразующих единиц (рис. 3, c).

На рис. 3, d, e наблюдается интересная зависимость, а именно происходит изменение цвета складчатых выпуклых колоний *Penicillium spp.* при увеличении концентрации экстракта СКИ-5 ПМ. Колонии на контрольном образце без добавления экстракта (рис. 3, f) имеют темно-зеленую окраску, раствор с добавлением минимальной концентрации (1 mg/ml) экстракта СКИ-5 ПМ (рис. 3, d) имеет зеленый цвет, а при увеличении концентрации (начиная от 5 mg/ml) цвет изменяется на белый (рис. 3, e). При этом наблюдаются также морфологические изменения: колонии грибов становятся более изолированными.

На рис. 3, g представлена оптическая фотография чашки Петри с добавлением минимальной концентрации (0.1 mg/ml) экстракта СКИ-5 ПМ. Метод „укола“ позволил определить, что скорость роста бархатистых колоний *Alternaria alternata* — невысокая.

Результаты, представленные в табл. 7 и 8, показывают, что для всех экстрактов НК и СК наблюдается дозозависимая активность. Экстракт синтетического каучука СКИ-5 ПМ обладает максимальной скоростью подавления

роста (1.2 ± 0.1 mm/day) широко распространенных плесневых грибов *Aspergillus niger* по сравнению с экстрактами НК (0.8 ± 0.2 mm/day). Такая закономерность, вероятно, связана с наличием в составе НК сахаров, белков и ферментов, которые создают хорошие условия для развития различных видов плесени.

Сравнение фотографий культур на рис. 3, d–f свидетельствует о том, что внесение полученных экстрактов каучуков подавляет рост тест-культуры *Penicillium spp.*, относящейся к классу несовершенных грибов (*Deuteromycota*). Местообитание этой культуры — почва и субстраты растительного происхождения. Морфологической особенностью *Penicillium spp.* является то, что они образуют мицелий из септированных ветвящихся гиф, на концах которых образуются первичные и вторичные разветвления — метулы I и II-го порядка (многомутовчатые кисточки). От вершин метул отходят пучки бутылкообразных фиалид, несущих цепочки округлых конидий зеленого, желто-коричневого, розового или фиолетового цвета [17].

На плотной питательной среде Сабуро выпуклые колонии образуют разветвленный мицелий, на котором развиваются особые гифы, несущие споры. Увеличение концентрации экстрактов НК и СК активно подавляет распространение колоний, о чем свидетельствуют размеры зоны ингибирования (табл. 9).

Экстракты натуральных и синтетических каучуков в равной степени проявляют антимикробную активность в отношении грибов *Alternaria alternata*: с увеличением концентрации экстрактов наблюдается увеличение размера колонии микроорганизмов (табл. 10, 11).

Морфология, размерные характеристики и тонкое строение колоний *Aspergillus niger* и *Penicillium spp.* исследованы достаточно подробно в работах [17–20]. Схема строения грибов *Aspergillus niger* и *Penicillium spp.* приведена на рис. 4 [20].

Установлено, что вегетативное тело *Aspergillus niger* представляет собой очень разветвленный мицелий, пронизывающий субстрат. Конидиеносцы — гифы мицелия грибов, на которых развиваются споры — отходят вверх от особых клеток мицелия — опорных клеток. Верхняя часть конидиеносца вздувается, образуя пузырь. На пузыре или только в верхней его части

Таблица 9. Зона подавления роста гриба *Penicillium spp.* экстрактами каучуков (метод „укола“)

Образцы	Концентрация экстрактов, mg/ml					
	0.1	1	5	10	20	30
	Размер колонии, mm					
Экстракт НК марки SVR-10	25.0 ± 0.5	25.0 ± 0.3	24.0 ± 0.3	24.0 ± 0.4	22.0 ± 0.3	16.0 ± 0.5
Экстракт каучука марки СКМС-30 АРКМ-27	19.5 ± 0.6	19.0 ± 0.5	18.0 ± 0.7	16.0 ± 0.5	15.0 ± 0.6	13.0 ± 0.7
Экстракт НК марки CVL-20	7.0 ± 0.8	13.0 ± 0.3	17.0 ± 0.3	18.0 ± 0.5	19.0 ± 0.7	19.5 ± 0.6
Экстракт каучука марки СКМС-30 АРКМ-27	6.0 ± 0.4	17.0 ± 0.2	18.0 ± 0.4	21.0 ± 0.2	23.0 ± 0.2	24.0 ± 0.5

Таблица 10. Зона подавления роста гриба *Alternaria alternata* экстрактами каучуков (метод „укола“)

Образцы	Концентрации экстрактов, mg/ml				
	0.1	1	5	10	50
	Размер колонии, mm				
Экстракт НК марки SVR-10	2.0 ± 0.2	6.0 ± 0.5	8.0 ± 0.2	12.0 ± 0.3	15.0 ± 0.5
Экстракт каучука марки СКИ-5 ПМ	7.0 ± 0.8	9.0 ± 0.7	10.0 ± 0.1	11.0 ± 0.6	13.0 ± 0.7
Экстракт НК марки CVL-20	–	10.5 ± 0.4	11.0 ± 0.6	12.0 ± 0.2	14.0 ± 0.7
Экстракт каучука марки СКМС-30 АРКМ-27	9.0 ± 0.6	10.5 ± 0.3	11.0 ± 0.4	11.5 ± 0.1	12.0 ± 0.4

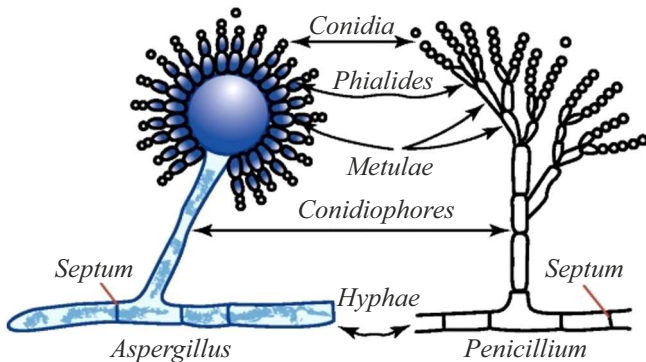


Рис. 4. Схематическое изображение строения грибов *Aspergillus niger* и *Penicillium spp.* [20].

размещаются флажковидные клетки — фиалиды, из узкого горлышка которых радиально выходят одна за другой, располагаясь в цепочку, одноклеточные конидии. Зрелые конидии имеют сферическую форму и при созревании у *Aspergillus niger* становятся шиповатыми или бугорчатыми (рис. 4) [20]. Окраска массы конидий придает разный цвет плесневому налету (колонии) [18]. В нашем случае наблюдаемые конидии имеют размеры от 4 до 6 μm в диаметре (рис. 3, a–c) и окраску темно-коричневого оттенка.

В свою очередь, *Penicillium spp.* имеют хорошо развитый разветвленный многоклеточный мицелий, размножаются преимущественно конидиальным спороношени-

Таблица 11. Динамика роста колоний грибов *Alternaria alternata* (метод „укола“)

Образцы	Диаметр колонии, mm		
	3 суток	5 суток	7 суток
СКИ-5 ПМ (C = 0.5 mg/ml)	3	10	15
СКИ-5 ПМ (C = 3 mg/ml)	5	8	16
НК марки SVR-10 (C = 2 mg/ml)	7	14	> 20
НК марки SVR-10 (C = 3 mg/ml)	6	12	19

ем. Нитевидные гифы (диаметр гифов — 2–3 μm) образуют основную структуру сегментированных, т.е. разделенных перегородками, конидиеносцев *Penicillium spp.* Ответвленные участки конидиеносцев имеют одну мутовку фиалид на вершине, также могут иметь двухъярусное строение и состоять из метул и расположенных на них фиалид (рис. 4) [20]. Следует отметить, что, согласно литературным данным [19], в зависимости от вида конидии могут иметь разный цвет — белый, зеленый и др.

В наших экспериментах показано, что конидии колоний *Penicillium spp.* имеют разную окраску в зависимости от концентрации экстракта СКИ-5 ПМ (рис. 2, d–f), колонии достигают 3–4.5 μm в диаметре, кроме того, в зависимости от концентрации, наблюдается изменение расстояния между колониями.

Таблица 12. Зона подавления роста грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* экстрактами каучуков (ДДМ)

Образцы	Концентрация экстрактов, mg/ml		
	5	20	30
	Размер зоны ингибирования, mm		
Экстракт НК марки SVR-10	6.5 ± 0.5	5.5 ± 0.4	2.0 ± 0.8
Экстракт СК марки СКИ-5 ПМ	5.5 ± 0.4	4.0 ± 0.3	3.0 ± 0.5

Результаты проведенных экспериментов показывают, что в качестве материалов для изготовления резиновых изделий, используемых в повседневной жизни человека, безопаснее использовать синтетические аналоги НК. Причиной служит активный рост плесневых грибов на поверхности резиновых изделий на основе НК.

2.2. Исследование антибактериальных свойств ацетоновых экстрактов каучуков

Бактерии *Bacillus Subtilis* — грамположительные спорообразующие аэробные бактерии, широко распространенные в почве, оказывающие повреждающее действие на материалы, с которыми контактируют.

Посев культуры бактерий *Bacillus Subtilis* осуществляли в чашки Петри в стерильных условиях с помощью бактериальной петли, для равномерного распределения культуры применяли шпатель Дригальского. В центр чашек Петри помещали стерильный бумажный диск ($d = 1.5 \text{ cm}$), изготовленный из фильтровальной бумаги, пропитанный экстрактом СКИ-5 ПМ.

Под воздействием экстракта наблюдалось образование ярковыраженной зоны подавления роста культуры бактерий, размеры которой варьировались от 3 до 5.5 mm, что позволило оценить биологическую активность исследуемого соединения — ацетонового экстракта СКИ-5 ПМ (табл. 12).

При увеличении концентрации экстракта наблюдались изменения морфологии бактериальной пленки, при этом распределение культуры по площади чашки Петри приобретало более рыхлый характер — почти половину засеянной площади занимали островковые образования. Для сравнительной оценки биологической активности использовали контрольный раствор, в составе которого экстракт каучука отсутствует. При этом наблюдался равномерный рост колоний микроорганизмов с образованием однородной гомогенной био пленки.

Размеры зоны подавления роста грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* экстрактами каучуков, определенные ДДМ, приведены в табл. 12.

Наибольшая активность экстрактов НК и СК в отношении штамма *Bacillus Subtilis* наблюдалась при использовании минимальной концентрации — 5 mg/ml. С увеличением концентрации экстрактов НК и СК уменьшается размер зоны ингибирования, антибактериальные свойства становятся менее выраженными.

Для сравнения спектра действия экстрактов каучуков были выбраны различные тест-культуры, среди которых как грамположительные бактерии *Bacillus Subtilis*, так и граммотрицательные бактерии *Escherichia coli*. Исследование антибактериальных свойств экстракта НК марки SVR-10 проводили при изменении концентрации экстракта от 5 до 50 mg/ml. Показано, что при этом увеличивается зона подавления роста бактерий *Escherichia coli*, т. е. наблюдается дозозависимая активность.

В случае экстракта НК марки CVL-20 зона подавления роста *Escherichia coli* наблюдалась только при концентрациях выше 30 mg/ml.

В свою очередь, экстракты СК при минимальных концентрациях (1–10 mg/ml) не проявляли активности в отношении исследуемого штамма, и при высоких концентрациях (30–50 mg/ml) зона подавления роста была незначительной — 3–5 mm.

2.3. Исследование спектральных характеристик каучуков и их ацетоновых экстрактов методом ИК спектроскопии

Методом ИК спектроскопии с использованием приставки НПВО исследовали образцы исходных каучуков СКИ-5 ПМ и SVR-10, а также их ацетоновых экстрактов.

Согласно ГОСТ 28665-90 (ИСО 4650-84) [21], спектры *цис*-1,4-изопреновых каучуков должны иметь 5 характеристических полос поглощения: 885 (очень сильная), 1370 (сильная), 800 (средняя), 1640 (средняя) и 909 cm^{-1} (плечо). Спектр исходного каучука СКИ-5 ПМ на рис 5 (кривая 1, красная) имеет следующие полосы поглощения: 834 (деформационные колебания СН групп); 1376 (деформационные колебания СН₃ групп); 1645 cm^{-1} (валентные колебания С=C). Кроме того, в области $3200\text{--}2500 \text{ cm}^{-1}$ наблюдаются три достаточно интенсивные полосы — 2850, 2920 и 2960 cm^{-1} , относящиеся к валентным колебаниям С–Н-связи в группах СН₂. Эти полосы можно обнаружить в спектрах всех соединений, содержащих углеводородную цепь [22].

На рис. 5 также приведен ИК спектр высушенного экстракта каучука СКИ-5ПМ (кривая 2, синяя). Видно, что в этом спектре присутствуют полосы поглощения: 963 (деформационные колебания С–Н (1,4-транс)); 1080 (деформационные колебания С–Н); 1187, 1461 и 1495 (деформационные колебания СН₂); 2849 и 2921 cm^{-1}

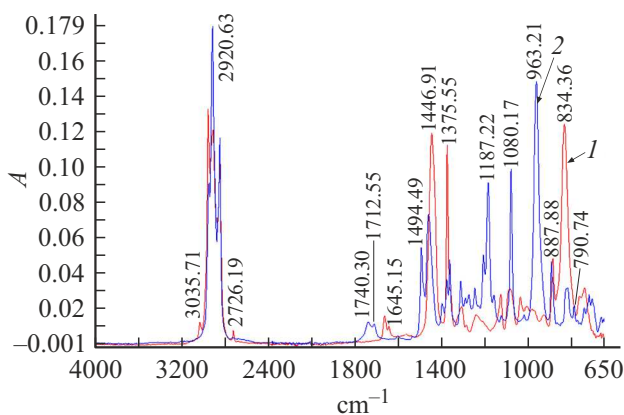


Рис. 5. ИК спектры образцов каучука SKI-5 ПМ (1 (красная кривая) — исходный каучук, 2 (синяя кривая) — высушенный экстракт каучука).

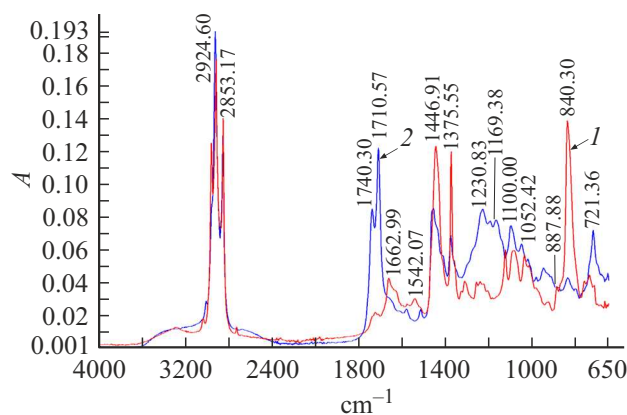


Рис. 6. ИК спектры образцов натурального каучука марки SVR-10 (1 (красная кривая) — исходный каучук, 2 (синяя кривая) — высушенный экстракт каучука).

(валентные несимметричные колебания CH_2). Следует отметить, что в спектре экстракта происходят следующие изменения: появляется дублет при 1740 и 1712 cm^{-1} и целый ряд узких полос поглощения средней интенсивности в области $1500\text{--}850\text{ cm}^{-1}$, а также происходит расщепление на полосы 720 и 732 cm^{-1} . Это характерно для веществ, имеющих в углеводородной цепи более четырех групп CH_2 и находящихся в твердом состоянии [22].

Сравнение полученных спектров синтетического каучука SKI-5 ПМ с ИК спектрами НК марки SVR-10 показывает существенную разницу как в случае исходного каучука, так и в случае экстракта.

На спектре исходного НК марки SVR-10 (рис. 6, кривая 1, красная) присутствуют следующие интенсивные полосы поглощения: 840 — деформационные колебания CH -групп; 1376 (деформационные колебания CH_3 -групп); 1447 cm^{-1} (деформационные колебания CH_2 -групп) и три близко расположенные полосы средней интенсивности: 1663 (валентные колебания $\text{C}=\text{C}$), $1128\text{--}1017\text{ cm}^{-1}$ (деформационные колебания CH -групп) и слабые полосы: 1542 (деформационные колебания N-H -групп, белки), $1312\text{--}1205\text{ cm}^{-1}$ (деформационные колебания CH_2 -групп).

На рис. 6 приведен ИК спектр высушенного экстракта НК марки SVR-10 (кривая 2, синяя). Видно, что в этом спектре появляются полосы поглощения 721 — деформационные колебания CH_2 -групп, 1052 — деформационные колебания CH -групп (1,2); 1100 , 1169 cm^{-1} — деформационные колебания CH -групп, 1376 cm^{-1} (деформационные колебания CH_3 -групп), 1459 cm^{-1} с двумя плечами (1443 и 1413 cm^{-1}) — деформационные колебания CH_2 -групп; 2925 cm^{-1} (валентные несимметричные колебания CH_2). Более того, в этом спектре обнаружено резкое увеличение интенсивности полосы при 1740 cm^{-1} и появление интенсивной полосы 1711 cm^{-1} . Это обу-

словлено валентными колебаниями карбонильной группы ($\text{C}=\text{O}$) стеариновой и олеиновой кислот [22].

На рис. 6 в спектре исходного каучука марки SVR-10 присутствует также широкий „колоколообразный“ пик в диапазоне от 3600 до 3000 cm^{-1} с максимумом при 3350 cm^{-1} , соответствующий валентным колебаниям N-H -групп (белки) [23]. А в спектре экстракта имеется более широкая полоса в диапазоне от 3600 до 2400 cm^{-1} , которая свидетельствует о содержании в составе экстракта кроме белков, других составляющих натурального каучука (жирных кислот, фосфолипидов, сахаров и т.п.) [23].

2.4. Прогнозирование спектра биологической активности в программе PASS-online

С целью анализа полученных результатов и прогнозирования биологической активности разных компонентов СК и НК в настоящей работе осуществлен расчет с помощью пакета программ PASS-online. Результаты расчета приведены в табл. 13, 14.

Оказалось, что компоненты, входящие в состав СК, с высокой вероятностью могут оказывать ветрогонное действие (для лимонена — 96.1%) и проявлять активность ингибитора аспульвиондиметилаллилтрансферазы (для изопрена — 95.0%).

Также для этих двух компонентов были предсказаны следующие виды активности: фунгицидная, противовирусная и антимикобактериальная с вероятностями проявления от 35.2 до 61% [13].

Прогноз биологической активности компонентов НК, приведенный в табл. 14, показал, что для циклодекана и 4,7-диметилдекана с наибольшими вероятностями ($93.3\text{--}94.3\%$) характерно проявление двух видов активности — ингибитора аспульвиондиметилаллилтрансферазы и ингибитора акроцилиндропепсина соответственно. Для данных веществ также было предсказано проявление противовирусной, фунгицидной, антибактериаль-

Таблица 13. Прогноз биологической активности экстрактов цис-изопреновых СК с помощью пакета программ PASS-online

Активность	$P_a, \%$	$P_i, \%$
Лимонен		
Carminative	96.1	0.1
Retinol dehydrogenase inhibitor	93.4	0.0
Antieczematic	89.6	0.5
Alpha-pinene-oxide decyclase inhibitor	88.1	0.1
Apoptosis agonist	81.6	0.7
Antimycobacterial	61.0	0.9
Antiviral (Rhinovirus)	57.4	0.9
Antifungal	58.2	2.0
Изопрен		
Aspulinone dimethylallyltransferase inhibitor	95.0	0.3
Cl-transporting ATPase inhibitor	88.2	0.3
Carminative	86.1	0.3
Antineoplastic	85.8	0.6
Mucomembranous protector	85.9	0.8
Antiviral (Rhinovirus)	65.2	0.4
Antiseborrheic	63.7	5.0
Antifungal	48.7	3.3
Antimycobacterial	35.2	6.0

ной и других видов активностей [24]. Следует отметить, что ингибирование даже одного какого-либо фермента, участвующего в важном метаболическом процессе, приостанавливает весь процесс, а иногда может оказаться смертельным для микроорганизма.

Заключение

В работе получены ацетоновые экстракты НК и СК различных марок и определена их биологическая активность. Методом ИК спектроскопии НПВО показано, что экстракты исследованных каучуков имеют разный состав и содержат различное количество стеариновой, олеиновой и линолевой кислот. При этом экстракты НК содержат белки, ферменты, сахара, оказывающие значительное влияние на микробиологическую активность.

Для определения биологической активности экстрактов каучуков использовали тест-культуры различных микроорганизмов: бактерий, грибов и дрожжей.

Так, показано, что с увеличением концентрации экстракта НК от 1 до 50 mg/ml, зона ингибирования дрожжей *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745, уменьшается

Таблица 14. Прогноз биологической активности экстрактов натуральных каучуков с помощью пакета программ PASS-online

Активность	$P_a, \%$	$P_i, \%$
Циклододекан		
Aspulinone dimethylallyltransferase inhibitor	93.3	0.4
Nicotinic alpha6beta3beta4alpha5 receptor antagonist	92.8	0.2
Testosterone 17beta-dehydrogenase (NADP+) inhibitor	92.5	0.4
Ubiquinol-cytochrome-c reductase inhibitor	92.5	0.4
Glucan endo-1,6-beta-glucosidase inhibitor	92.2	0.3
Antiseborrheic	84.9	1.0
Antiviral (Picornavirus)	68.4	0.7
Antiviral (Adenovirus)	51.6	0.5
Antiviral (Influenza)	48.5	2.5
Antibacterial, ophthalmic	31.3	0.4
Antifungal	30.1	8.0
4,7-диметилдекан		
Acrocyllindropepsin inhibitor	94.3	0.3
Chymosin inhibitor	94.3	0.3
Saccharopepsin inhibitor	94.3	0.3
Testosterone 17beta-dehydrogenase (NADP+) inhibitor	92.6	0.4
5 Hydroxytryptamine release stimulant	92.5	0.4
Polyporopepsin inhibitor	92.4	0.4
Antiseborrheic	85.7	0.9
Antiviral (Picornavirus)	61.8	1.6
Antiviral (Rhinovirus)	55.9	1.1
Antianginal	48.1	4.7
Antifungal	46.6	3.7
Antiviral (Influenza)	45.7	3.1
Antiviral (Herpes)	42.6	2.5

в 2 раза. Напротив, в этом же диапазоне концентраций с увеличением концентрации экстракта СК зона ингибирования увеличивается в 2 раза. Наилучшие результаты в отношении ингибирования роста дрожжей *Candida tropicalis* показали экстракты СК, концентрацию которых варьировали от 0.1 до 50 mg/ml.

С увеличением концентрации экстрактов как НК, так и СК (в диапазоне концентраций от 1 до 30 mg/ml) уменьшается размер зоны ингибирования роста грам-

положительных спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis*, т.е. антибактериальные свойства экстрактов становятся хуже.

На тест-культуре широко распространенных плесневых грибов *Aspergillus niger* показано, что экстракт синтетического каучука СКИ-5 ПМ обладает максимальной скоростью подавления роста (1.2 ± 0.1 mm/day) по сравнению с экстрактами НК (0.8 ± 0.2 mm/day). При этом экстракты НК и СК в равной степени проявляют фунгицидную активность в отношении колоний плесневых грибов черного цвета *Alternaria alternata*.

Теоретический расчет биологической активности компонентов НК и СК предсказывает разные виды активности: антибактериальную, фунгицидную, противовирусную и другие.

Сравнительная скрининговая оценка антибактериальных и фунгицидных свойств полученных экстрактов по критерию изменения размеров зоны ингибирования роста микроорганизмов показала, что наиболее перспективными для применения в медицинской и пищевой промышленности являются изделия из СК марки СКИ-5 ПМ.

Благодарности

Авторы выражают благодарность к.х.н. С.И. Короткову, Р.А. Чеботарю (ФГБУ „НИИСК“) и к.т.н., доценту Е.Б. Ароновой (ИБСиБ СПбПУ) за техническую помощь в проведении микробиологических экспериментов и обсуждение результатов.

Финансирование работы

Исследования проводились за счет средств ФГБУ „НИИСК“.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] Дж.М. Мартин, У.К. Смит. *Производство и применение резинотехнических изделий* (Профессия, СПб., 2006)
- [2] ТУ 2294-016-73776139-2009. *Каучук синтетический цис-изопреновый СКИ-5 ПМ*.
- [3] A. Rahimi, A. Mashak. Rev. Rubbers in Medicine: Natural, Silicone and Polyurethane Rubbers, **42**(6), 223 (2013). DOI: 10.1179/1743289811Y.0000000063
- [4] В.А. Васильев, И.Ш. Насыров. *Отечественные промышленные стереорегулярные каучуки. Исследования и разработки* (Башк. энциклопедия, Уфа, 2018)
- [5] Б.Р. Кулуев, Р.Р. Гарафутдинов, И.В. Максимов, А.М. Сагитов, Д.А. Чемерис, А.В. Князев, З.Р. Вершинина, Ан.Х. Баймиев, А.А. Мулдашев, Ал.Х. Баймиев, А.В. Чемерис. Биомика, **7**(4), 224 (2015).
- [6] Б.А. Догадкин, А.А. Донцов, В.А. Шершнева. *Химия эластомеров* (Химия, М., 1981)
- [7] ТУ 2294-051-16810126-2004. *Каучук СКИ-5 ПМ. ТУ*.
- [8] И.В. Гармонов. *Синтетический каучук* (Химия, Л., 1983)
- [9] Е.Б. Свиридов. *Книга о полимерах: свойства и применение, история и сегодняшний день материалов на основе высокомолекулярных соединений* (ЕСАФУ, Архангельск, 2016)
- [10] ГОСТ ISO 1407-2013. *Каучук и резина. Определение веществ, экстрагируемых растворителем* (Стандартинформ, М., 2014)
- [11] ГОСТ 24919-91. *Каучук. Определение сольвентного экстракта* (Изд-во стандартов, М., 1992)
- [12] Методические указания 4.2.1890–04. *Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам*. Клини. микробиол. антимикроб. химиотер. **6**(4), 306 (2004).
- [13] Е.Н. Ригер. *Изучение антимикробных свойств экстрактов каучуков с использованием тест-культур* (Магистерская дисс., СПбПУ, СПб., 2023)
- [14] Т.С. Калебина, И.С. Кулаев. Успехи биологической химии, **41**, 105 (2001).
- [15] D. Yagnik, V. Serafin, J. Ajit. Shah. Sci. Rep., **8**, 1732 (2018). DOI: 10.1038/s.41598-017-18618-x.
- [16] Д.Г. Звягинцев. *Почва и микроорганизмы* (Изд-во МГУ, М., 1987)
- [17] М.В. Горленко. *Все о грибах* (Высшая школа, М., 1986)
- [18] Электронный ресурс. Режим доступа: <http://bio.niv.ru/doc/encyclopedia/life-of-plants/articles/352/rod-aspergill-aspergillus.htm>
- [19] К.С. Болотова. *Классификация и морфологические особенности микроорганизмов* (САФУ, Архангельск, 2016)
- [20] Электронный ресурс. Режим доступа: <https://studopedia.org/14-95608.html>
- [21] ГОСТ 28665-90 (ИСО 4650-84). *Резина. Идентификация. Метод инфракрасной спектроскопии* (Изд-во стандартов, М., 1991)
- [22] Е.И. Кнерельман, Р.С. Яруллин, Г.И. Давыдова, Г.П. Старцева, В.Я. Чуркина, П.Е. Матковский, С.М. Алдошин. Вестник Каз. тех. ун-та, **6**, 68 (2008).
- [23] Х.Т. Чан, А.П. Рахматуллина. Вестник тех. ун-та, **20**(8), 69 (2017).
- [24] D.A. Filimonov, A.A. Lagunin, T.A. Glorizova, A.V. Rudik. Chem. Heterocyclic Compounds, **50**(3), 444 (2014). DOI: 10.1007/s10593-014-1496-1