ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «УДМУРТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

БИОЛОГО-ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра ботаники и экологии растений
Специальность 011600 биология

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ
Зав. кафедрой д. б. н.,
профессор Баранова О. Г.
_____
«24» 06 2006 г.

Квалификационная (дипломная) работа

«Влияние параметров активированной воды на бактерии вида *Escherichia coli.*»

Работу выполнил:
студент 0-011600-54 группы — Каратаева С. Ю.

Научный руководитель:
ст. преподаватель — Маградзе Е. И.

Консультант:
к. ф-м. н. — Широносов В. Г.

Ижевск
2006

Оглавление

Введение 2
Глава I. Обзор литературы 4
1. 1. Экспериментальные данные о влиянии электрохимически обработанных жидкостей на различные биологические объекты 4
1 .2. Строение и свойства воды 9
1. 2. 1. Структура объемной воды 9
1. 2. 2. Излучение воды 12
1. 2. 3. Вода как растворитель 13
1. 2. 4. Проводимость водных сред 14
1. 3. Понятие электрохимической активации. Свойства электрохимически активированной воды в сравнении с необработанной водой. 15
1. 3. 1. Бесконтактная активация 18
1. 4. Причины биологического действия электрохимически активированной воды. 21
Глава II. Методы и материалы 29
2. 1. Материалы 29
2. 2. Методы 29
2. 2. 1. Приготовление ЭХА раствора 29
2. 2. 2. Бесконтактная активация. Культивация *Escherichia coli.* 30
2. 2. 3. Фотометрия. Калибровка. 31
2. 2. 4. Графика и математический анализ. 33
Глава III. Результаты опытов и их обсуждение 36
3. 1. Бесконтактная активация питательной среды 36
3. 2. Влияние бесконтактной активации питательной среды на рост клеток вида Escherichia coli в зависимости от времени релаксации активного раствора. 37
3. 2. 1. Результаты опытов по активации культуральной жидкости непосредственно после отключения тока. 38
3. 2. 2. Результаты опытов по активации культуральной жидкости после 5 часов релаксации активного раствора. 41
3. 2. 3. Результаты опытов по бесконтактной активации культуральной жидкости после 15 часов релаксации активного раствора. 45
3. 2. 4. Обобщение результатов трех серий опытов 48
Выводы 50
Список литературы. 51
Приложение 59
Список сокращений 69

Введение

В последние годы электрохимически активированные вода и различные растворы стали популярны благодаря не только расширяющемуся научному интересу, но и активному использованию в сельском хозяйстве, медицине, быту. Однако, до сих пор, не смотря на существование нескольких направлений по исследованию процессов активации и влияния ее на биообъекты, механизмы воздействия не выяснены, а данные различных работ противоречивы. Данное исследование призвано продолжить одно из этих направлений на основе распространенного объекта *Escherichia coli* как хорошо изученного, стабильного и неприхотливого.

Работа основывается на изучении изменения кинетики роста культуры клеток по общеизвестной методике (измерения оптической плотности культуральной жидкости) в ответ на влияние активированной воды с различными параметрами.

Новизна работы заключается в использовании нового метода бесконтактной активации культуральной жидкости, который позволяет изменять состояние культуры клеток без добавления химических веществ путем изменения окислительно-восстановительного потенциала воды при ее кластеризации.

Целью данной работы является установление факта влияния бесконтактной активации культуральной жидкости и направления этого влияния в зависимости от времени релаксации активного раствора. В связи с этим были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать влияние бесконтактной активации на кинетику роста бактерий вида *Escherichia coli* непосредственно после отключения активатора, то есть с нулевым временем релаксации.

2. Исследовать влияние бесконтактной активации на кинетику роста бактерий вида *Escherichia coli* после 5 часов релаксации активного раствора.

3. Исследовать влияние бесконтактной активации на кинетику роста бактерий вида *Escherichia coli* после 15 часов релаксации активного раствора.

Глава I. Обзор литературы

1. 1. Экспериментальные данные о влиянии электрохимически обработанных жидкостей на различные биологические объекты

На биологическую активность жидкостей из электролизеров впервые обратила внимание группа ташкентских ученых в 70-х гг. в лаборатории электротехнологии Среднеазиатского НИИ природного газа. Там было обнаружено, что буровые растворы, приготовленные на католите технической воды с различной степенью минерализации, обладали «рядом полезных свойств» (Леонов Б. И., Прилуцкий В. И., Бахир В. М.). В первую очередь установили уменьшение расхода реактивов и увеличение смачиваемости пород, во вторую – повышенную биологическую активность, положительную или отрицательную в зависимости от камеры электролизера (анодной или катодной), в которой обрабатывался буровой раствор. Растворы, полученные в катодных камерах называются католитами, а в анодных – анолитами.

Анолит обладает мощным бактерицидным и фунгицидным действием и обеззараживает семена, католит является эффективным биостимулятором, ускоряет рост и развитие растений, а также повышает их устойчивость к почвенным патогенам [3].

В 1999 г влияние активированной воды было показано на растительном объекте - семенах ячменя. Для постановки эксперимента было отобрано несколько групп семян. Первую группу (контрольную) замачивали в водопроводной воде в течение 24 часов. Остальные группы вначале обрабатывали анолитом в течение 5 часов, затем католитом в течение 19 часов. Обработка электроактивированной водой способствовала более раннему прорастанию семян - до 50% от общего количества на 1-й день после высева. Для сравнения: в контрольной группе проросло 0-26% семян от

их общего количества. Всхожесть увеличилась на 22 - 60% по сравнению с контролем [50, 22].

Далее было установлено влияние электрохимически активированной (ЭХА) воды на млекопитающих, их способность к регенерации. При поении мышей, облученных смертельной дозой рентгеновского излучения, активированной водой с ОВП равном -450 мВ смертность уменьшилась с 96 до 10% по сравнению с контрольной группой, которую поили обычной водопроводной водой с положительным значением ОВП. Из первых опытов стало ясно, что влияние проявляется положительно, то есть изучаемые объекты реагируют повышением способности к регенерации и общей активности [50].

На свиноводческой ферме проблемной лаборатории ГСХА (Государственная сельскохозяйственная академия) была проведена апробация электрохимически активированной воды, полученной на установке типа «СТЕЛ» с помощью добавления в воду 0,5-2% раствора поваренной соли. Было сформировано три группы. Поросята первой опытной группы получали католит, а также корм, смоченный аналогичной водой. Во второй опытной группе поросята получали только смоченный католитом корм, а воду пили обычную. В контрольной группе смачивали корм и поили животных обычной водой. В итоге, у животных первой и второй опытных групп среднесуточный прирост за период откорма был выше, чем у контрольных соответственно на 45,8% и на 31,4%, а так же у опытных животных затраты кормов были ниже, чем в контрольной группе соответственно на 21,91% и 15,45% [5].

Существуют также данные по исследованию антимикробных свойств электроактивированного анолита. Одним из первых экспериментов по изучению свойств анолита были эксперименты по выявлению нижнего предела параметров, при котором начинают проявляться его бактерицидные

свойства. В качестве тест-культур в этом эксперименте были выбраны следующие культуры микроорганизмов:

- *Echserihia coli* - как наиболее устойчивый вид из группы кишечных бактерий;
- *Staphylococcus aureus* - как наиболее устойчивый вид из кокковой группы микробов;
- *Bacterium antracoides* - один из наиболее устойчивых представителей спорообразующих микроорганизмов.

В работе экспериментально установлены параметры получения анолита, при которых осуществляется стерилизующее действие этого слабого раствора на большие концентрации микробов (400 млн. микробных тел кишечной палочки и 400 тыс. микробных тел споровой палочки) [3, 2].

При обработке растворов, содержащих хлориды, в анолите образуется окислитель в виде молекулярного хлора, хлорноватистой кислоты или гипохлорит-ионов. Окислители нарушают барьерные свойства мембран клеток, что приводит к их гибели [73, 43, 44].

В настоящее время электрохимически активированные дезинфектанты эффективно и широко используются в медицине для обработки сложных поверхностей инструментов, а так же там, где требуются затраты дезинфектанта на большие площади обработки. Растворы имеют низкую себестоимость, малую токсичность для человека, высокую эффективность при обеззараживании [20, 18].

Принцип действия анолита нейтрального заключается в фундаментальных различиях между колонией микроорганизмов и соматическими клетками высших эукариот. При действии нейтрального анолита на соматические клетки эукариот происходит его частичное поглощение, и обезвреживание активной части системой антиоксидантной защиты клетки. Некоторая часть радикалов включается в биохимические

реакции (например, реакции окислительного фосфорилирования), что приводит к повышению обменных процессов клетки, и в частности к усилению неспецифического иммунитета [29].

При действии на прокариот происходит значительное поглощение нейтрального анолита клеткой. Обезвреживание радикалов посредством окисления различных молекул (липидов мембран, ферментных комплексов и т.п.) приводит к замедлению и полному прекращению метаболизма. Высокая скорость проникновения и сильная окислительная способность анолита обеспечивает уничтожение не только вегетативных клеток (обеззараживание), но и спор (стерилизацию) [50].

Не маловажный вклад в объяснение механизмов влияния активированных сред на клетку вносят опыты молекулярной биофизики. Работа непосредственно с раствором белка как важнейшего соединения, входящего в состав всех клеток и очень чувствительного к малейшим изменениям в среде, позволяет сделать некоторые выводы. В данных опытах использовалась активация различных растворов, содержащих Ca, Na, K и Cl. Регистрировали изменение флуоресценции бычьего сывороточного альбумина в этих активированных растворах. Слабое магнитное поле, влияя на структурную организацию водной среды (процесс кластерообразования), приводит к изменению микроокружения белковых макромолекул и, как следствие, меняет конформацию белка в водном растворе [62].

В настоящее время активно изучается влияние активации на такую сложную биологическую систему как кровь человека. Данные в работе указывают на увеличение скорости оседания эритроцитов, что Казанкин Д. С. объясняет появлением в воде продуктов гидролиза – активных форм кислорода (АФК), которые вызывают перекисное окисление липидов в мембранах эритроцитов по радикальному механизму [30, 66].

Так же, одним из характерных результатов опытов по влиянию ЭХА на биообъекты является снижение гетерогенности данных в не зависимости от

явных стимулирующего или угнетающего эффектов. Так в работе с дрожжевыми клетками показано, что в сильно разбавленной дистиллированной водой культуре наблюдается постепенное увеличение гетерогенности по показателям электрокинетических свойств, что связано с неблагоприятными условиями среды обитания. Если же дистиллированная вода была предварительно активирована – наблюдается постепенный обратный эффект, не смотря на влияние тех же угнетающих факторов. Эти данные свидетельствуют о повышении адаптивности клеток к лимитирующим факторам среды [31].

Несмотря на разнообразие работ, такой распространенный объект исследований как *Escherichia coli* мало изучается как предмет воздействия ЭХА. Наиболее близкие к нашей работе результаты исследований поступают в печать (журнал «Биофизика») с 1999 г. Институт биофизики клетки РАН в Пущино Московской области провел ряд экспериментов на основе контактной электрохимической обработки питательной среды и ее последующего воздействия на периодическую культуру *Escherichia coli*. С помощью измерения оптической плотности было показано, что в анолите питательной среды клетки не растут, а в католите наблюдается стимулирующий эффект, начиная с лог-фазы. Изменения количества биомассы определяли по изменению оптической плотности культуральной жидкости. В работе было показано, что в анолите прироста биомассы не происходит. Однако католит оказывает стимулирующее действие на рост культуры, начиная с лог-фазы: биомасса увеличивалась до 24% по сравнению с контролем. Авторами ведется поиск причин биологического действия католита питательной среды на клетки кишечной палочки через различные химические и физические методы (определение ОВП, pH, ЭП, содержания АФК, свободных радикалов, ионов водорода и хлора). А так же обнаруживается возможность стимулирующего действия анолита и ингибирующего действия католита питательной среды в зависимости от насыщенности активируемых растворов [41, 42, 45, 46].

Кроме описанных выше работ по влиянию ЭХА на *Escherichia coli* существуют данные о влиянии на кишечную палочку электромагнитного излучения через воду. В. Исаханян и коллеги изучали (через различные водные растворы) влияние элеткромагнитного излучения (ЭМИ) на рост *Escherichia coli*. Показано, что при использовании разных растворов эффект может быть противоположным: ускорение или ингибирование роста, что еще раз указывает на роль воды при действии облучения. Облученная бидистиллированная вода угнетает рост, а фосфатнотрисовый буфер – ускоряет. Однако эта работа основана на методиках отличных от наших [28].

1 .2. Строение и свойства воды

1. 2. 1. Структура объемной воды

Жидкая вода имеет очень сложную структуру, и многие особенности первой до сих пор не нашли четкого объяснения. Для воды характерна ярко выраженная способность к самоорганизации вследствие высокого дипольного момента и способности к образованию четырех водородных связей. Первичными структурами могут являться ди-, три-, олиго- и полимеры, из которых в дальнейшем образуются циклические структуры в основном пяти- и шестичленные, которые далее формируют различные пространственные многогранники. Из этих структурных элементов в дальнейшем могут образовываться длинные цепи и пространственные структуры, заполняющие почти весь объем [55].

В разных работах описаны размеры доменов от 10^{-9} до 10^{-4} м, имеющие упорядоченную структуру, вероятно с более плотной упаковкой, что подтверждается исследованием прохождения затопленной струи через бидистиллированную воду.

По некоторым данным в стандартных условиях около 30% всех молекул воды находится в виде отдельных молекул, 40% входит в состав стабилизированных ассоциатов, называемых кластерами, а 30% приходится

на случайные ассоциаты, не имеющие определенной структуры. А среднее время жизни молекул воды в ассоциатах составляет 10^{-9} с [53, 54].

Структура жидкой воды была предметом обширных исследований. Ее изучение в XX столетии породило множество концепций, для большинства которых признается наличие упорядоченных доменов в воде [13].

С точки зрения термодинамики, образование упорядоченной структуры воды вызывает уменьшение энтропии, что невыгодно, так как приводит к увеличению свободной энергии. Однако эта энергия снижается благодаря образованию четырех водородных связей, что с избытком компенсирует уменьшение энтропии. Таким образом, в целом, изменение свободной энергии при образовании кластерной структуры воды отрицательно [51].

Достаточно полно обобщены и проанализированы материалы нескольких научных открытий, связанных с установлением ряда новых закономерностей и явлений строения и свойств воды в книге под редакцией Рахманина Ю. А. и Кондратова В. К. [13].

Одно из первых теоретических исследований структуры воды связано с именами Дж. Бернала и Р. Фаулера (1933 г.). Они, на основе рентгеноструктурных исследований строения льда и жидкой воды, пришли к выводу о тетраэдрической координации молекул воды, что позволило с новых позиций рассмотреть структуру водных растворов электролитов [70, 10].

От идеальной модели воды требуется полное соответствие математических расчетов экспериментальным данным о свойствах воды. Наибольшее развитие получила двуструктурная модель, характеризующая воду как совокупность двух состояний - кластерного (крупные ассоциаты из множества десятков молекул воды) и кубического (свободные от водородных связей молекулы образуют плотную кубическую упаковку). Эта модель качественно объясняет аномальную плотность и другие свойства воды, связывая их со внутренней перестройкой жидкой фазы [13].

С.В. Зенин в своей работе предлагает строение клатратов в виде додекаэдрических тетраэдров из 912 молекул. Их грани представлены разнообразно расположенными диполями молекул воды. При этом свойства воды объясняются через комплементарное связывание граней различных тетраэдров [24].

А. Н. Смирнов с соавторами обнаружили, что в воде движение частиц гидрофильных суспензий, отличается от любых видов конвекции высокой степенью упорядоченности и анизотропностью и быстро восстанавливается после любых гидродинамических возмущений. Это указывает на то, что структуры, образованные упорядоченными комплексами воды, играют роль направляющих, вдоль которых движутся дисперсные частицы. Современные методы позволяют фотографировать эти структуры, которые должны отличаться от «объемной» воды коэффициентом преломления света. Например, методом лазерной интерферометрии, особенность которой заключается в использовании амплитудно-фазовой модуляции расширенного лазерного пучка при прохождении через слой воды. Эти иследования позволили обнаружить ориентированные вдоль нормали к поверхности воды крупные комплексы, а так же то, что пространственное расположение их относительно друг друга имеет ярко выраженную динамику. Появление-исчезновение новых комплексов или их перемещение фиксируется цифровой видеосъемкой [55].

Водородная связь имеет частично ковалентный и электростатический характер. За счет неподеленных пар в молекуле воды могут возникнуть две водородные связи, а две другие обусловлены двумя атомами водорода. В целом, каждая молекула воды способна иметь четыре направленные водородные связи. Неполная реализация водородных связей в воде послужила основой для создания различных моделей, объясняющих так же свойства воды (двуструктурная модель, модель заполнения пустот, модель изогнутых водородных связей, модель молекулярных ассоциатов, клатратные модели). Привлекает внимание тот факт, что протоны в этой сетке находятся

не посередине между атомами кислорода, а располагаются ближе к тому кислороду, с которым связаны ковалентной связью. Однако так как строение молекул воды симметрично, фактически у протонов имеется не одно, а два равноправных положения и переходы протона из одного положения в другое могут рассматриваться, как переориентация молекул и образование ионных пар. Переходы протонов между двумя возможными состояниями происходят по «туннелю» водородной связи, который облегчает переход, по крайней мере, в 70 раз. Судя по данным нейтронографии, оба положения протона равновероятны, но конечно, переходы отдельных протонов не могут происходить полностью независимо так как это связано с перераспределением зарядов в кластере. Способность протона находиться в двух возможных положениях в структуре льда объясняет аномально высокую подвижность протона во льду, приближающуюся к подвижности электронов в металлах и некоторых полупроводниках. Привалов еще в 1968 году писал: «Согласно механизму Гротгуса, перемещается не один и тот же индивидуальный протон, а лишь форма его свободного состояния, т.е. протоны, присоединяются к ближайшей молекуле воды в цепи упорядоченной последовательности, от этой молекулы отщепляется другой протон и присоединяется к последующей и т.д. Таким образом, возникает миграция протона сквозь туннели Н-связей, снижающие энергетические барьеры. Следовательно, мы приходим к заключению, что структура упорядоченных молекул воды - лед обладает способностью дальнодействия» [72, 56, 48].

1. 2. 2. Излучение воды

Для воды так же характерны и другие особенности наряду с кластерообразованием. Вследствие высокой полярности молекул воды и их чрезвычайной подвижности между различными ее состояниями вода является источником сверхслабого, а иногда и слабого электромагнитного излучения, переменного по интенсивности, направлению и частоте [54].

В настоящее время это излучение регистрируется и записывается, однако, без указания реального источника. В качестве осциллятора излучения воды выступает движение ее молекул между возможными состояниями: одиночные молекулы, случайные ассоциаты и кластеры [37, 41, 62, 63, 69].

В одной из работ методом флуоресцентной спектроскопии была исследована коротковолновая флуоресценция бидистиллированной воды (БДВ) и показано, что электрохимическая обработка воды не приводила к появлению собственной флуоресценции католита и анолита в случае электролизера из кварцевого стекла. А наблюдаемое увеличение интенсивности излучения в электролизере из технического оргстекла объясняется появлением в БДВ микропримесей из материалов электролизера. То есть электрохимическая обработка оказывает влияние на появление микропримесей в БДВ [25].

1. 2. 3. Вода как растворитель

Известно, что при растворении в воде электролитов изменяется структурная компонента воды, образуя гидратные оболочки вокруг ионов. Вследствие этого объем после растворения уменьшается. Снижается так же давление пара, увеличивается осмотическое давление раствора, повышается температура кипения и снижается температура замерзания. Причем, чем более слабый раствор, тем сильнее эти изменения относительно чистой воды. Если при этом фаза кластерной воды охватывает объем больший относительно исходного, а известно, что величина гидратных оболочек зависит от валентности, природы ионов, их радиуса, то энтропия будет отрицательной [26].

Поэтому, если биологическая активность жидкостей обязана кластерной компоненте либо продуктам ее разрушения на электродах в процессе электролиза (АФК, радикальные реакции, ион-кристаллиты), то наилучший эффект должен ожидаться при минимальном содержании солей.

Однако, анализируя данные о современном понятии растворов электролитов и эмпирических исследованиях результатов электрохимической обработки дистиллированной воды, можно предположить, что существует минимум концентрации веществ, при котором будет осуществляться биологическая активность [26, 25].

В другой работе автор обращает внимание, что несмотря на снижение энтропии при растворении в воде различных веществ, это не всегда приводит к увеличению «кластерности» воды. При увеличении организованной составляющей воды увеличивается свободная энергия $\Delta F \geq 0$, которая зависит от вклада изменений энтальпии H и энтропии S. Энтальпия уменьшается благодаря образованию связей между растворенными ионами и молекулами воды, а энтропия уменьшается благодаря увеличению гитратных оболочек, кластерной компоненты раствора. Если ион крупный и имеет большой заряд, то, не вписываясь в структуру воды, он разрушает кластеры и образует связи с окружающими его молекулами. В таком случае вклад энтропии будет больше, следовательно: $\Delta F = \Delta H - T\Delta S$ будет положительным. Этим обусловлена большая стабильность газовых кристаллогидратов [48].

1. 2. 4. Проводимость водных сред

К явлениям, в которых вода проявляет свойства ассоциированной жидкости, относятся – кавитация, криолюминесценция, флотация, сверхпроводимость в сильных электрических полях и на поверхности диэлектрических материалов, ионизация воды, зарядовая эмиссия и др.

По данным ряда экспериментальных работ вода способна проявлять свойства сверхпроводника, находясь в электрическом поле. В большей степени проводимость воды исследована в ее тонких пленках на поверхностях различных материалов (кварцевые стекла, керамики, пленки CdS). Однако сверхпроводимость регистрируется как на поверхностных пленках, так и в толще водной среды. Считается, что проводимость в воде обусловлена протонами. Нахождение протонов в межмолекулярном

пространстве на периферии молекул воды может рассматриваться до некоторой степени как состояние свободных частиц, что было известно еще в 70х годах. Подобное состояние протонов напоминает состояние электронов в металле. Согласно последним представлениям сверхпроводимость воды связана с фазовыми переходами, которые могут происходить под действием различных факторов (температуры, давления, и вероятно различных методов активации воды) [13, 48].

При воздействии постоянного магнитного поля, электромагнитного поля (ЭМП) и низкочастотных механических колебаний удельная электропроводность воды уменьшается. Причем, факторы эти ослабевают с возрастом воды в пределах всего нескольких дней. Предполагается, что воздействие ЭМП приводит к увеличению степени диссоциации молекул воды, так как под его влиянием этого поля находятся неспаренные электроны кислорода [1].

1. 3. Понятие электрохимической активации. Свойства электрохимически активированной воды в сравнении с необработанной водой.

Под активацией воды понимают ее переход к устойчивому неравновесному состоянию, которое характерно для всех живых объектов и соответствующее приобретение реакционных способностей и характеристик. В частности, поверхностного натяжения, растворяющей способности и такого сочетания диапазонов значений окислительно-восстановительного потенциала и pH, которое не подчиняется уравнению стационарного ОВП с учетом фактора pH:

$$\varphi_{cm} = \varphi_{н} + \{0.061\lg([Ox]/[\mathrm{Re}\,d])/n\} - 0.06\,pH\,, \qquad (1)$$

где φ_{cm} - стационарный ОВП с поправкой на pH; $\varphi_{н}$ - ОВП для данной редокс-пары относительно НВЭ при равновесии концентраций окисленных и восстановленных форм, при pH=0 и равно $\varphi_{\circ}$ + 0,42 В; $\varphi_{\circ}$ - стандартный ОВП данной редокс-пары при pH=7, при 1 атм и 25°С относительно НВЭ [6].

Однако вода в отличие от живой системы не способна производить работу на восстановление собственной «структурной энергии» (термин по Бауэру) – поэтому мы наблюдаем постепенную релаксацию свойств активированной воды до появления устойчивого состояния, согласно законам термодинамики.

Для оценки состояния активных растворов удобно определять изменение свободной энергии (ΔG). Если в процессе воздействия на раствор это значение отрицательно, раствор принимает восстановительные свойства относительно исходного состояния. Существует несколько способов определения меры изменения свободной энергии. Во-первых, это расчет ΔG с помощью табличных значений окисления восстановленной формы кислородом. Во-вторых, это измерение ОВП. В случае активации водных сред удобно пользоваться вторым способом, так как в процессе активации происходит образование множества веществ, в том числе короткоживущих и не выделяемых из раствора – радикалов. ОВП – это сила, необходимая для отрыва электрона от исследуемой среды, а сильно отрицательные значения говорят о том, что система стремится отдать электрон. Вода приобретает элеткронодонорные свойства [40, 26].

Активировать воду можно различными способами: фазовые переходы воды, температура и давление, особенно при их сверхкритических значениях, акустические колебания, электрические, магнитные и электромагнитные поля с определенными характеристиками. Исследования установили, что многие вещества, в том числе и входящие в различные лекарственные препараты при своем растворении приводят к эффекту бесконтактной активации жидкости. Химическими реагентами для опытов послужили: компоненты обычного проявителя для черно-белой фотографии (метолгидрохиноновый, фенидонгидрохиноновый); некоторые лекарственные препараты [21].

Суть метода электрохимической активации заключается в обработке воды в электролизерах. При этом могут использоватся различные электроды и виды самой воды (слабых растворов). В прикатодной камере получают католит, а в прианодной – анолит, которые различаются по составу и свойствам. В нашей работе используется активация в бездиафрагменном элетролизере. Свойства обработанной таким образом воды зависят от соотношения католита и анолита и, следовательно, конструкции электролизера (активатора), растворенных в воде веществ, параметров тока [42].

Сам термин *электрохимическая активация* и первые эксперименты были представлены ташкентскими учеными в 70-е гг. На основании экспериментов по ЭХА с помощью электролизеров различного типа был сделан ряд обобщений, касающихся составляющих анолита и католита и обусловливающих их особую физико-химическую активность:

1. Стабильные продукты электрохимических реакций (кислоты, основания)
2. Высокоактивные неустойчивые продукты электрохимических реакций с периодом существования до десятков часов (свободные радикалы, активные формы кислорода)
3. Долгоживущие структуры, сформированные в области объемного заряда у поверхности электродов, как в виде свободных структурных комплексов, так и гидратных оболочек ионов, молекул, радикалов, атомов.

По мнению авторов [7, 50, 36] биокаталитическими свойствами обладают именно составляющие третьей группы.

Выделяют следующие стадии процесса в диафрагменном электролитическом активаторе:

1. Формирование ассоциатов в соответствии со знаком заряда (ион-кристаллитов) в католитной и анолитной камерах активатора. Ион-кристаллиты – ассоциаты молекул воды, обладающие внешним зарядом. Диаметры положительных ион-кристаллитов на порядки меньше диаметров отрицательных, поэтому их подвижность в электрическом поле выше.
2. Упорядочение ион-кристаллитов, или их кластеризация, что приводит к образованию каналов проводимости.
3. Движение кластеров ион-кристаллитов к мембране, проникновение через мембрану и дальнейшее движение к противоположно заряженному электроду.
4. Последовательный распад ион-кристаллитов. Продукты распада претерпевают трансформацию и передают электроду электрический заряд. На этой стадии образуются активные формы кислорода (перекиси, свободные радикалы) [13].

Из выше сказанного следует, что для электрохимической активации требуется определенный временной минимум, что подтверждается экспериментальными данными по приготовлению активированных сред. При использовании бездиафрагменных электролизеров очевидно потребуется меньше времени на 3-ю стадию, и, следовательно, на процесс активации в целом.

1. 3. 1. Бесконтактная активация

Кроме прямой ЭХА существует понятие «бесконтактной активации» (БА). Суть этого эффекта заключается в способности воды активироваться без контакта с поверхностями электродов. Структурно-энергетическое возбуждение передается сквозь толщу водной среды (что объясняется способностью воды к проводимости) и тонкостенные материалы из полимеров, то есть диэлектрики (полиэтилен, фторопласт и др.). Впервые получение структурированной воды с отрицательным значением

окислительно-восстановительного потенциала без изменения ее химического состава (феномен бесконтактной активации жидкостей) при электролизе с диафрагмой было предсказано теоретически И.Л. Герловиным в 1982 г., на основе разработанной им физической теории фундаментального поля [50].

Метод БА в электролизере без диафрагмы был основан в 1999 г. и объяснен без теории фундаментального поля на основе классической физики нелинейных динамических резонансных систем - резонансных кластеров из диполей воды [68, 65, 67].

Эффект БА наблюдается вне зависимости от того включен ли ток или соприкосновение водных сред через полимер осуществлялось после отключения прибора. Таким образом, если поместить герметичную емкость из тонкого полимера, заполненную жидкостью А, в ЭХА раствор, то в данной жидкости А так же изменится значение ОВП [36].

Современное понятие о проводимости полимеров дает возможность объяснить передачу электронодонорных свойств от жидкости к жидкости через полимер благодаря механизму передачи заряда волной электронно возбужденных состояний (ЭВС), проходящей по полимеру. Когда под действием электрического тока из валентной области полимера выходит электрон, образуется вакантная область («дырка»). В результате этого участок полимера претерпевает структурные изменения, образуя устойчивый катион-радикал, названный авторами *полароном*. По системе сопряженных π-связей этот полярон способен делокализовываться. При отрыве электрона от участка, где уже есть полярон, образуется *биполярон*. Два положительных заряда биполярона не являются независимыми, они функционируют как пара. Как поляроны, так и биполяроны мобильны и под действием электрического поля способны двигаться вдоль полимерной цепи путем реорганизации двойных и одиночных связей в сопряженной системе. Поляронная теория проводимости ныне признана основной моделью переноса заряда в полимерах. Необходимо, однако, отметить, что она была развита для

полимеров с недостижимой в реальных условиях идеальной структурой. Кроме того, переносу заряда через полимеры способствует примесь катионов металлов в их структуре. Чем чаще находятся эти катионные центры, тем более проводящим оказывается полимер [60, 37, 59].

Другая теория передачу состояний от жидкости к жидкости через полимеры объясняет электромагнитным излучением. Выше уже было сказано об излучающей способности воды при ее кластеризации. Электромагнитное излучение легко проникает через полимер и способно индуцировать кластеризацию и образование радикальных реакций и их продуктов (АФК) [14].

Экспериментально эффект был обнаружен и впервые исследован В.М. Бахиром только в 1992 г. В опытах герметичные тонкостенные емкости из диэлектрика с изотоническим раствором хлорида натрия (ампулы, капсулы, либо трубка из полихлорвинила) помещались в рабочие камеры (анодную или катодную) электрохимического диафрагменного активатора. Как правило, активация ампул велась 30 мин. при включенном токе, либо при токе, выключенном непосредственно перед погружением емкостей с раствором в электрохимически активированные среды. После экспозиции герметизированных ампул в анолите или в католите показатель ОВП изотонического раствора существенно изменялся, при незначительном изменении pH, что может рассматриваться как проявление бесконтактной электрохимической активации. Этот эффект качественно одинаков при работе электролизера и после его выключения. Анолит и католит действуют на раствор хлорида натрия через стекло, лавсан и фторопласт [50].

Исходя из выше сказанного, наиболее удобными на сегодняшний день методами оценки активности электрохимически обработанной воды и бесконтактно активированных жидкостей являются измерения значений ОВП и pH, а для выявления механизма биологического действия целесообразно ставить эксперименты по воздействию ЭХА жидкостей на живые системы и

оценивать их при помощи стандартных методик определения состояния биообъектов.

1. 4. Причины биологического действия электрохимически активированной воды.

В обзорной статье о воде П.Л. Привалов, поднимая проблему о ее роли в биологических системах и основываясь на многочисленных данных о структуре и свойствах воды, предположил, что вода обладает «дальнодействием» и способна передавать энергию через собственный объем к биологическим структурам [48].

Так же, результаты независимых работ свидетельствуют о том, что вода, при сообщении ей дополнительной энергии, способна переводить биомолекулы в электронно-возбужденное состояние (ЭВС). Эксперименты проводились как на клетках, так и на моделях – растворах биомолекул в воде. [15, 62].

В биологических структурах вода так же находится в двух состояниях: кластеризованном и свободном. В различных тканях и одних и тех же, но на разных стадиях развития, сочетание этих состояний меняется. Наименее кластеризована вода в нервных волокнах. Авторы объясняют это наиболее плотной упаковкой ткани, и, как следствие, наименьшим соприкосновением воды с гидрофобными структурами. При увеличении площади гидрофобных поверхностей увеличивается и структурированность воды [48].

В работе группы ученых Института химической физики РАН (Москва), показано, что структурированность воды в ткани отвечает морфофункциональному состоянию последней. То есть различным физиологическим состояниям соответствует определенная структурированность воды [34].

В первых исследованиях ЭХА были сделаны выводы о том, что активация тесно связана с сильными изменениями ОВП, а для любых клеток существуют определенные пределы ОВП и pH среды, в которых они могут

функционировать. Поскольку даже дистиллированная вода содержит в себе небольшое количество растворенных веществ, то в первую очередь продукты их электролиза – устойчивые продукты элеткрохимического синтеза (окислители и восстановители) - влияют непосредственно на клетки, изменяют ОВП около- и внутриклеточной среды, регулируя таким образом активность энедогенных биоокислителей и биоантиокислителей. Сдвиги градиента ОВП на биологических мембранах влияют на перенос веществ. Поэтому имеется различие между анолитом (сильным окислителем) и католитом (восстановителем), а так же между активированными слабыми и сильными растворами. Однако при БА не идет процесса электролиза, но изменяются значения ОВП, что связано с определенной организацией структуры воды и формированием АФК, а не с продуктами электролиза растворенных в воде веществ [36].

Еще в 1970 г. Г.В. Сумаруков систематизировал литературные данные и показал в эксперименте, что уменьшение ОВП тканей и органов, а также жидких биологических сред, сопровождается радиопротекторным действием независимо от того, каким именно методом вызвано снижение ОВП (гипоксия, введение антиоксидантов или выработка эндогенных радиопротекторов). При этом в организме происходит нейтрализация окисленных продуктов за счет создания условий их взаимодействия с избытком восстановленных молекул. В результате снижается риск необратимых перекисных повреждений биосубстрата [57].

Необходимо отметить, что введение в организм восстановителей само по себе не гарантирует значительных отрицательных сдвигов ОВП в тканях. Попытки изменения и регулирования ОВП внутренних сред организма химическими способами труднопредсказуемы. Хотя существует ряд веществ вызывающих локальные уменьшения ОВП мышечной ткани на 140-170 мВ (цистеин, цистамин, тиомочевина, нитрит натрия, фруктоза, метионин и др.). Этиловый спирт уменьшает ОВП мышцы на 13 мВ, что подтверждает

хорошо известное в быту слабое противолучевое действие этого вещества [57].

Как показывают расчеты, колебания ОВП во внутренних средах организма всего лишь на десятки мВ физиологически существенны. Следовательно, параметр ОВП должен занять свое место в ряду актуальных гомеостатических характеристик [50].

Но в целом проблема управления ОВП внутренней среды организма разработана слабо в связи с рядом методических трудностей. Прежде всего, технические возможности измерения ОВП в живом организме крайне ограничены [27].

Кроме того, общий набор медико-биологических методов воздействия на электронное равновесие организма в подавляющем большинстве случаев обходится без учета ОВП, что создает в данной области информационный вакуум [50].

Отрицательные значения ОВП бесконтактно активированной воды создают электронодонорный фон. Равновесие биохимических реакций в такой среде может быть сдвинуто. Созданный в бесконтактно активированной среде электрондонорный фон, может использоваться клетками как энергетический резерв антиоксидантной защиты организма при неблагоприятном влиянии внешней среды [50].

Окислительно-восстановительный потенциал зависит от температуры и взаимосвязан с pH. В некоторых применениях (например, в обработке воды для бассейнов) ОВП является одним из основных параметров контроля качества воды. В частности потому, что позволяет оценить эффективность обеззараживания воды. Для иллюстрации приводим таблицу зависимости продолжительности жизни типичных микроорганизмов от величины редокс-потенциала [74].

ОВП, мВ	Время жизни E-Coli, мин.
450-500	167
500-550	6
550-600	1,7
700-750	0,2
750-800	0,05

Прилуцким В.И. были проведены опыты на клеточных тест-объектах показывающих изменение их свойств при инкубировании в средах с различным ОВП. Опыты проводились на клетках, обладающих собственной подвижностью (сперматозоиды быка, эвглена зеленая (*Euglena viridis*)). Было показано, что оптимальный диапазон ОВП среды инкубирования по показателю подвижности сперматозоидов смещен в отрицательную сторону и составляет ОВП = -130 - 0 мВ, ХСЭ. Для *Euglena viridis* хорошая подвижность наблюдалась в диапазоне Eh = -200 … +500 мВ, ХСЭ.. Объясняется это тем, что в электрондонорной среде происходит сдвиг равновесия биохимических реакций, который, в результате, способствует накоплению восстановленных форм без угнетения тканевого дыхания, что эквивалентно анаболическому эффекту [50, 49].

На биологическом факультете Ереванского государственного университета было проведено исследование изменений ОВП питательной среды в результате развития в ней культуры кишечной палочки. Важно отметить, что анаэробный рост бактерий *Esherichia coli* сопряжен с отрицательными значениями ОВП, который, вероятно, необходим для оптимального роста бактерий данного вида. В процессе увеличения биомассы скорость уменьшения значений ОВП отвечает скорости роста клеток. Падение ОВП свидетельствует об усилении восстановительных процессов, что, по-видимому, характерно для метаболических процессов в анаэробных условиях. ОВП питательной среды определяет перенос электронов, а также состояние и распределение некоторых групп белков на бактериальной мембране. От ОВП зависит и протондвижущая сила на

мембране, которая необходима для сохранения внутреннего постоянства клетки. Протондвижущая сила так же зависит и от pH среды, но при бесконтактной активации этот показатель как правило не изменяется так как нет прямого воздействия электродов и тока (электролиз) [33].

Выше было сказано, что в результате электрохимической обработки воды образуются АФК. Известен физико-химический механизм образования перекиси водорода в водных растворах под действием тепла двумя взаимосвязанными путями: в первом случае это образование гидроксильного радикала, во втором – тепловая активация растворенного атмосферного кислорода (образование синглетного кислорода). При акустических колебаниях в результате распада ассоциатов воды могут разрываться как водородные, так и более прочные внутримолекулярные связи с образованием гидроксил-радикалов. При воздействии ультразвука происходит кавитация – образование микропузырьков, в которых молекулы воды так же разрываются на радикалы. Импульсное электромагнитное излучение поглощается водными средами, приводя к увеличению кинетической энергии, то есть к повышению температуры и образованию АФК. Кроме того, выше было сказано, что АФК образуются при ЭХА на стадии разрушения кластеров на электродах [19].

Еще в 1938 г. А.Г. Гурвич показал, что в присутствии растворенного в воде кислорода в системе, где протекают цепные свободно-радикальные процессы с участием простых биомолекул, могут испускаться фотоны в УФ-области спектра, способные стимулировать в клеточных популяциях митозы (поэтому такое излучение было названо «митогенетическим»). Гурвич так же первым обнаружил, что растения, дрожжи, микроорганизмы, а также некоторые органы и ткани животных служат источниками митогенетических излучений в «спокойном» состоянии, причем это излучение является строго кислород-зависимым [14, 36, 13].

В большинстве публикаций по проблемам, связанным с активными формами кислорода, подчеркивается их деструктивное действие на мембраны, нуклеиновые кислоты и белки. Однако определенный «фон» АФК необходим для реализации действия на клетки биорегуляторных молекул, а сами АФК могут имитировать действие многих из них. Все организмы оснащены разнообразными механизмами для целенаправленной генерации АФК. Давно известен фермент NADPH-оксидаза, активно продуцирующий «токсичный» супероксид, за которым порождается вся гамма АФК. В клетках АФК постоянно генерируются и погибают, производя элеткронно-возбужденные состояния (ЭВС) биоструктур. «Мы предполагаем, что механизмы биологического действия АФК определяются структурой процессов, в которых они участвуют. Под «структурой процессов» мы понимаем частотно-амплитудные характеристики и степень фазовой согласованности процессов генерации и релаксации ЭВС, сопровождающих реакции взаимодействия АФК друг с другом или с синглетными молекулами. Порождаемые электромагнитные импульсы могут активировать специфические молекулярные акцепторы, и структура процессов генерации ЭВС определяет ритмы биохимических, а на более высоком уровне и физиологических процессов» [14].

На основе этого, а так же результатов многочисленных работ по влиянию электромагнитных полей на биологические объекты через водную среду, можно предположить, что биологическая активность обработанных жидкостей (элеткрохимическим или электромагнитным воздействиями) зависит от количества образуемых АФК и разветвленных свободно-радикальных реакций. Появление АФК при этом оценивают с помощью регистрации количества образовавшейся перекиси водорода (H_2O_2) [32, 11; 58, 61, 12; 62,16, 17, 23].

Однако существуют противоречащие данные о том, что от концентрации АФК в ЭХА средах биологическая активность зависит не всегда. Католит питательной среды стимулирует рост кишечной палочки на

10-13% больше, чем добавление в обычную питательную среду эквивалентного количества перекиси водорода. Кроме того, при уничтожении перекисей в католите питательной среды с помощью соответствующего количества каталазы величина стимулирующего эффекта не изменялась [45].

В еще одной экспериментальной работе автор показывает, что биологическая активность электрохимически активированных сред зависит от присутствия ионов хлора. Известно, что анолит угнетает рост микробов, а католит – стимулирует. В данном исследовании питательная среда, приготовленная на анолите или католите, соответственно угнетала или стимулировала рост культуры клеток *Esherichia coli* только если электролиз проходил в присутствии хлора в исходных растворах [41].

Таким образом, исследование влияния контактной элеткрохимической активации водных растворов на биологические объекты актуализировано активным и широким использованием их в медицине, сельском хозяйстве, промышленности и представляет общебиологический и практический интерес [38].

Однако в настоящее время не существует гибкой общепринятой теории о механизме воздействия ЭХА растворов на клетки и биополимеры. В рамках данного исследования под бесконтактной активацией мы понимаем образование в питательной среде и последующее влияние на клетки тех же «активных единиц», что образуются в растворе при электрохимической обработке, исключая продукты электролиза растворенных веществ. Под этими единицами понимаются разветвленные радикальные реакции, их продукты (АФК) и кластеры, состоящие из молекул воды и обладающие зарядом. Поскольку проводимость полимеров не имеет практического подтверждения, а теоретическая часть опирается на их идеальную структуру, и, кроме того, в нашей работе при активации питательной среды (бесконтактной активации) электрический ток отсутствует, то мы будем

считать, что при контакте полимерных емкостей с активированной водопроводной водой образование в питательной среде выше названных единиц происходит благодаря электромагнитному излучению. Выше сказанное опирается на практические работы, в которых с одной стороны показано образование электромагнитных импульсов в результате протекания разветвленных радикальных реакций в воде, а с другой стороны – индуцирование электромагнитными полями образования тех же радикальных реакций и кластеров [15, 60, 59, 19].

Суть воздействия бесконтактно электрохимически активированных растворов до конца не выяснена, однако именно эта методика оказывается наиболее удачной для практического применения, особенно в работе с микроорганизмами, где зачастую исключительно неблагоприятно или опасно для человека какое- либо контактное вмешательство в систему культуры клеток.

Глава II. Методы и материалы

2. 1. Материалы

В работе использовался лабораторный штамм микроорганизмов вида *Escherichia coli*. Для культивирования клеток и бесконтактной активации использовался питательный бульон на основе гидролизата рыбной муки «ГРМ-бульон» (ФС-42-3378-97 производства ФГУП Государственный научный центр прикладной микробиологии), который готовили по прилагаемой производителем инструкции. Бульон из разных партий незначительно различался по плотности и цвету в состоянии сухого вещества, а так же по оптической плотности в растворенном состоянии ($\Delta OD \leq 0.03$). Для ЭХА использовали воду с характеристикой: 100-450 мг/л, ОВП = 250 мВ, pH = 7,22±0,3.

2. 2. Методы

2. 2. 1. Приготовление ЭХА раствора

Активация воды проводилась в бездиафрагменном активаторе «Здрава», основанном на ячейке Фарадея, производства УНЦ «Икар» г. Ижевск. В каждом опыте в активаторе обрабатывалась водопроводная вода из сети водоснабжения в объеме 3 л в течение 1 ч 20 минут. Напряжение 24 V регулировалось с помощью специального адаптера (блока питания), работающего от обычной сети 220V и имеющего два режима – 12 и 24 V. Сила тока при этом зависела от напряжения и степени минерализации водопроводной воды и составляла диапазон 0,8-1,2 А. Такие параметры электрического тока не приводили к повышению температуры за время активации и, как следствие, нарушению чистоты опыта. Среднестатистическая характеристика водопроводной воды прошедшей активациию: ОВП = -290±30 мВ; pH = 7,27±0,3. Контрольный объем водопроводной воды находился в аналогичном устройстве при тех же условиях, но ток на электроды не подавался. При необходимости автоматического включения и отключения подачи тока на электроды

использовался цифровой таймер «Time Control 112» фирмы Hama, работающий от обычной сети 220 V. Процесс активации, а также все дальнейшие процессы (релаксация водопроводной воды, посев и культивация культуры клеток) проводили при 37±0,1 ^{0}C в термостате ТС 80 М2.

2. 2. 2. Бесконтактная активация. Культивация *Escherichia coli.*

Культура *Escherichia coli* предварительно подращивалась в небольшом объеме питательной среды (20 мл) в течение 15 часов. Посев в малый объем проводился в близи пламени газовой горелки с помощью металлической микробиологической петли. Непосредственно перед началом бесконтактной активации в подготовленные заранее и стерилизованные большие емкости из тонкого полимера с бульоном (по 3 пакета на опыт и контроль, V = 150 мл) проводился посев из культуры в малом объеме по 3 мл в каждый. Таким образом, после погружения пакетов в активированный и контрольный объемы водопроводной воды, бесконтактная активация питательной среды в опыте происходила в присутствии клеток *E. coli.* Наблюдения за изменением оптической плотности бульона в процессе роста культуры проводились в течение 6 часов. Для этого через определенные временные промежутки из пакетов отбиралось по 3 мл культуральной жидкости на пробу. В герметичной кювете сравнения находилась дистиллированная вода. Стерильная питательная среда исследовалась один раз в сравнении с той же дистиллированной водой, что и все остальные измерения в одном опыте. Все среды перемешивались взбалтыванием в течение 1 минуты перед забором проб. Для отбора проб использовалась универсальная цифровая пипетка (ДПАОП-2000-10000) с полипропиленовыми насадками производства «Ленпипет», г. С.-Петербург. Насадки, оснащенные плотными ватными валиками-пробками, стерилизовались в литровом лабораторном стакане из термостойкого стекла, покрытом легко увлажняющимся и воздухопроницаемым материалом. Стерилизация всех необходимых материалов (полимерные пакеты с бульоном, герметичные полипропиленовые пробирки на 20 мл с бульоном, полипропиленовые

наконечники для цифровой пипетки) проводилась в автоклаве при стандартных условиях (1 атм. изб.; 30 мин) [4].

Для исследований в области биологического действия бесконтактной активации воды существует большое разнообразие путей. Это может быть сравнение различных электродов, активаторов, полимерных материалов (в том числе их толщины, многослойности и др.), растворов, для чего требуются масштабные исследования с овладением множества методик и отслеживанием большого количества изменяющихся факторов. При этом постановка чистых опытов представляется большой сложностью из-за недостаточности методической и теоретической литературы в данной области. Мы выбрали в качестве единственной изменяемой величины – время релаксации активного раствора, так как этот параметр мало изучен. Под релаксацией понимается процесс перехода активированной воды в стабильное состояние, что отслеживается возвращением значений ОВП к исходным.

Значения pH и ОВП в жидкостях измеряли при помощи прибора «pH-150» при помощи стеклянного и платинового электродов относительно стандартного ХСЭ.

2. 2. 3. Фотометрия. Калибровка.

Для оптических измерений использовался двулучевой спектрофотометр «Specord-M40» с диапазоном от 300 до 900 нм. Все оптические измерения проводились при длине волны 540 нм. Оптический ход в исследуемой жидкости при этом составлял 1 см в кварцевых кюветах. В эталонной кювете находилась герметично закрытая прокипяченная (без газов) дистиллированная вода. Для оценки общей биомассы клеток сравнивались значения пропускаемости заселенной среды со значениями пропускаемости стерильной среды [39].

$$OD = \lg I_0 / I, \qquad (2)$$

где OD – оптическая плотность; I_o – процент пропускаемости эталонной жидкости (стерильной питательной среды) при длине волны 540 нм, %; I – процент пропускаемости исследуемой жидкости относительно той же дистиллированной воды, %.

Длина волны 540 нм выбрана как оптимальная для определения оптической плотности суспензий, так как при данной длине волны цветность среды оказывает минимальное влияние на показание оптической плотности вследствие малого поглощения света.

Для измерения биомассы дополнительно была проведена калибровка показаний спектрофотометра по Егорову и Герхардту на основе используемых в опытах питательной среды и других материалов. Для этого в полипропиленовых пробирках с помощью цифровой пипетки со стерильными наконечниками был проведен ряд последовательных разведений исходной подращенной культуры (при 37°С в течение 15 часов). Клеточную массу от питательного бульона дважды отделяли центрифугированием - 3000 об/мин в течение 50 минут. Осадок промывали 0,1 н раствором HCl после первого и второго процессов центрифугирования. Высушивание проводили в вакуумной камере при t = 200°С многократно до установления постоянного веса пробирок. Сами пробирки предварительно тщательно отмывались, высушивались и взвешивались тем же путем до установления постоянного веса. После построения графика зависимости оптической плотности от рассчитанной массы провели аппроксимацию с помощью программы Microsoft Excel [52, 39].

Калибровочный график представлен на рисунке 1.

Кривая описывается уравнением:

$$y = 534{,}89x^3-574{,}22x^2+702x+0{,}2437. \quad (3)$$

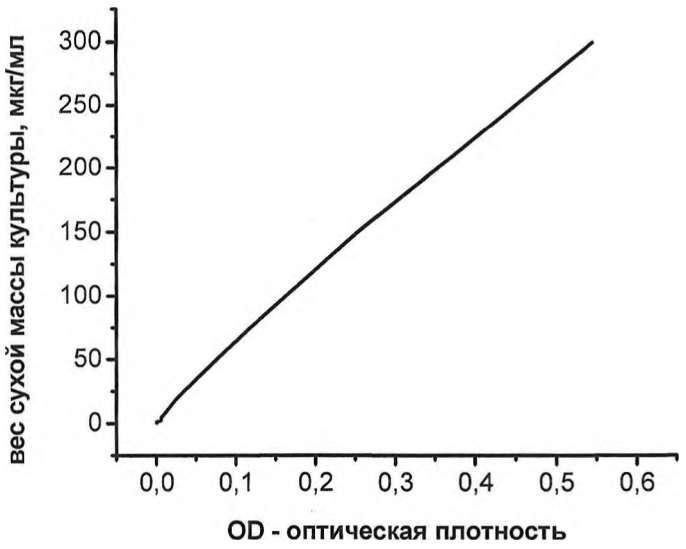

Рис. 1. Калибровочный график зависимости сухой биомассы культуры клеток *E. coli* от оптической плотности.

Коэффициент корреляции с экспериментальной кривой составил 99,99%.

При получении экспериментальных данных на основе показаний спектрофотометра по уравнению (3) находили значения биомассы клеток *E. coli*.

2. 2. 4. Графика и математический анализ.

Кинетика роста клеток

Обработка данных и построение графиков производили на ПК с помощью программ Microsoft Excel (Microsoft Office XP) и Origin Graph (Microcal Origin 6.10.52 Retail). Каждый опыт проводили в трех повторностях, контрольные эксперименты также проводили в трех повторностях. По данным спектрофотометра вычисляли пропускаемость (I_0/I) и усредняли значения в каждой точке измерения. По калибровочному графику, представленному на рисунке 1, находили значения сухой биомассы и по полученным результатам строили графики функции прироста биомассы от времени культивирования в питательной среде. Построение таких

графиков стандартно для оценки кинетики роста, и они легко сравнимы со многими работами по кинетике роста клеток микроорганизма вида E. coli [9].

Удельная скорость роста рассчитывалась по формуле:

$$\mu = \frac{\Delta x}{\Delta t}, \tag{4}$$

где – удельная скорость; x – значения сухой биомассы; t – время.

Время удвоения рассчитывали по формуле:

$$\overline{\Delta t} = \frac{\ln 2}{\mu}. \tag{5}$$

Для определения и сравнения величин варьирования результатов в данной работе применяется коэффициент вариации, так как известно, что в результате бесконтактной активации снижается разброс результатов. Коэффициент вариации рассчитывали по формуле:

$$CV = 100\frac{S}{\bar{x}}\ \%, \tag{6}$$

где S - стандартное отклонение; $\bar{x}$ - среднее арифметическое [35].

Статистические рассчеты

Средняя арифметическая величина результатов опытов рассчитывалась по формуле:

$$\bar{x} = \frac{1}{n}\sum_{i-1}^{n} x_i\ , \tag{7}$$

Стандартное отклонение рассчитывалось по формуле:

$$S_x = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}, \tag{8}$$

где x – оптическая плотность.

На основании формул (7) и (8) рассчитывали доверительный интервал:

$$\Delta x = S_{\bar{x}} t_{(p,n)}, \tag{9}$$

где S – стандартное отклонение; t(p,n) – коэффициент Стьюдента для малых выборок при P=0,05 (доверительная вероятность).

Коэффициент Стьюдента и число степеней свободы находили по формулам:

$$t = \frac{\left|\bar{x}_i - \bar{x}\right|}{\sqrt{S_1^2/n_1 + S_2^2/n_2}}, \tag{10}$$

$$k = n - 1 + \frac{2n-2}{S_1^2/S_2^2 + S_2^2/S_1^2}, \tag{11}$$

Где n – выборка; S – дисперсия; x – значения [64, 35].

Глава III. Результаты опытов и их обсуждение

3. 1. Бесконтактная активация питательной среды.

В силу того, что БА проходит по-разному в зависимости от количественного и качественного составов раствора, было проведено подготовительное исследование по БА стерильной питательной среды. Для этого в активатор с электрохимически обработанной водопроводной водой по выше описанной методике погружались пакеты, заполненные стерильной питательной средой, и измерялись значения ОВП и pH. Результаты представлены на рисунке 2.

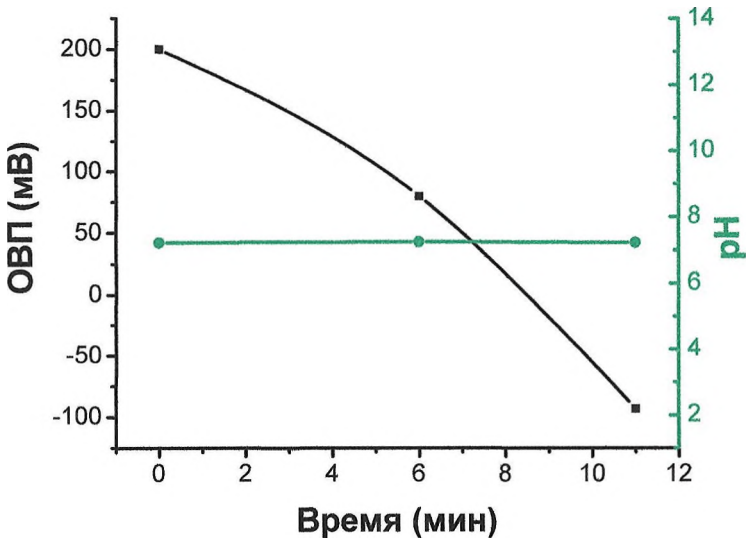

Рис. 2. Изменение ОВП и pH при бесконтактной активации свежеприготовленной питательной среды: —■— – изменение ОВП; —●— – изменение pH.

На рисунке 2 видно, что при незначительных изменениях pH в диапазоне от 7 до 7,4 амплитуда изменения значений ОВП исчисляется почти 300 мВ. Зная о том, что такое сочетание, не укладывающееся в описание формулой 1, характерно и показательно для активированной воды, заключаем – питательная среда при данных параметрах бесконтактно активируется.

3. 2. Влияние бесконтактной активации питательной среды на рост клеток вида Escherichia coli в зависимости от времени релаксации активного раствора.

Всего было проведено три серии опытов. Разница между тремя сериями заключается в различном времени релаксации активированной водопроводной воды:

I серия – пакеты с культурой клеток погружались в водопроводную воду в активаторе непосредственно после отключения электрического тока, то есть прекращения активации. Схема опыта представлена на рисунке 3.

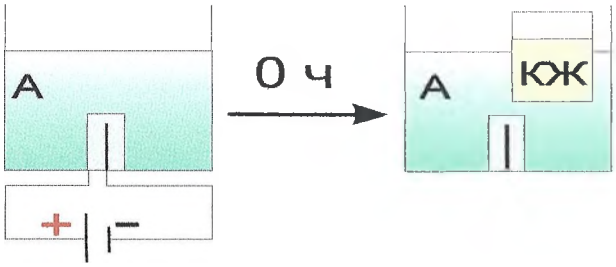

Рис. 3. Принципиальная схема опыта по бесконтактной активации культуры клеток *Esherichia coli* непосредственно после отключения активатора. **А** – активатор «Здрава» с водопроводной водой; **КЖ** – культуральная жидкость в пакете из тонкого полимера.

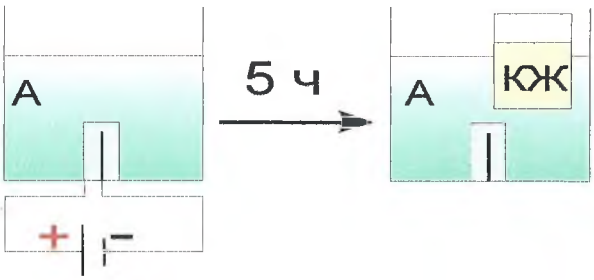

Рис. 4. Принципиальная схема опыта по бесконтактной активации культуры клеток *Esherichia coli* через 5 часов после отключения активатора: **А** – активатор «Здрава» с водопроводной водой; **КЖ** – культуральная жидкость в пакете из тонкого полимера.

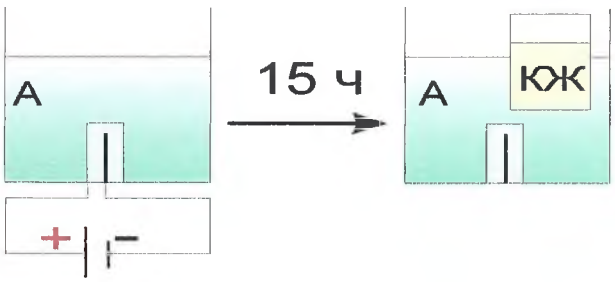

Рис. 5. Принципиальная схема опыта по бесконтактной активации культуры клеток *Esherichia coli* через 15 часов после отключения активатора: **А** – активатор «Здрава» с водопроводной водой; **КЖ** – культуральная жидкость в пакете из тонкого полимера.

II серия – пакеты с культурой клеток погружались в водопроводную воду через 5 часов после отключения электрического тока. В этой серии использовался таймер для автоматического включения и отключения активатора. Схема опыта представлена на рисунке 4.

III серия – время релаксации активированной водопроводной воды составляло 15 часов. Схема опыта представлена на рисунке 5.

3. 2. 1. Результаты опытов по активации культуральной жидкости непосредственно после отключения тока.

Результаты изменения кинетики роста клеточной культуры в опытах первой серии представлены на рисунке 6.

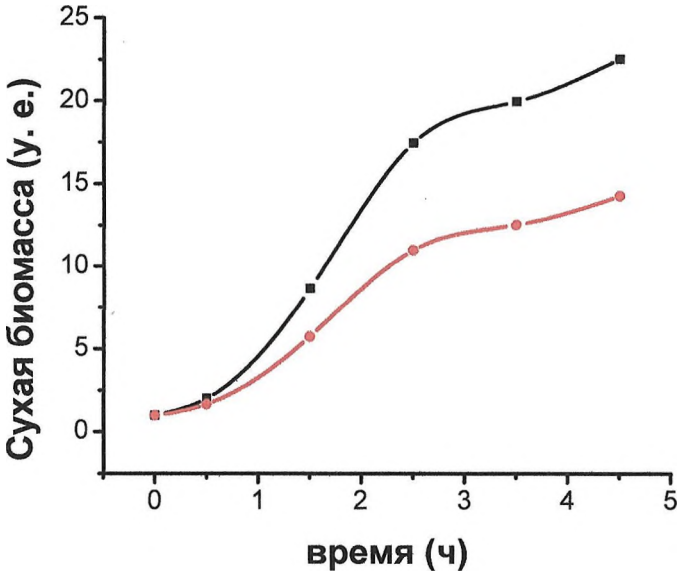

Рис. 6. Изменение кинетики роста клеток вида *Esherichia coli* в результате бесконтактной активации непосредственно после отключения электрического тока: —■— –контроль; —●— – опыт.

На графике отображены кривые роста биомассы клеток вида *Esherichia coli* в опыте и контроле. Их сравнение дает графическое представление об угнетающем влиянии бесконтактно активированной питательной среды непосредственно после отключения электрического тока.

Для оценки достоверности данных был рассчитан коэффициент Стьюдента для малых выборок по формуле (10). Полученные данные приведены в таблице 4 (см. приложение 1.). Поскольку все значения в таблице превышают критические, разница между контролем и опытом достоверна.

Кривые изменений ОВП в контрольном и активированном объемах водопроводной воды приведены на рисунке 7.

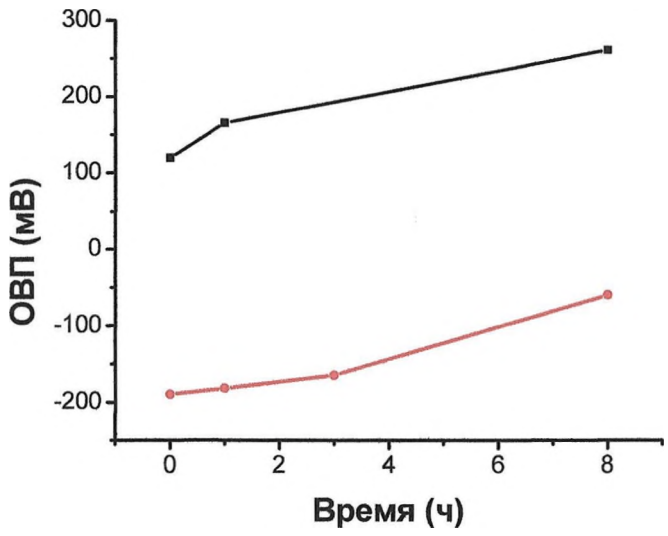

Рис. 7. Изменения значений ОВП в водопроводной воде в опытах по бесконтактной активации культуральной жидкости непосредственно после отключения тока: —■— –контроль; —●— – опыт.

На протяжении всего опыта разница значений ОВП между контролем и опытом составляла более 300 мВ. Это означает, что должно было осуществляться достаточно мощное воздействие ОВП на культуру клеток через полимер.

Для численного сравнения скоростей роста биомассы рассчитаны удельная скорость роста и время удвоения в логарифмической фазе. Данные, полученные по формулам (4) и (5), приведены в таблице 1.

Таблица 1.

Удельная скорость роста и время удвоения в логарифмической фазе в опытах серии I.

	Контроль	Опыт
Удельная скорость роста в логарифмической фазе	5,09	3,16
Время удвоения в логарифмической фазе	0,14	0,22

В соответствии с кривыми на рисунке 6, удельная скорость роста меньше у опытных культур, чем у контрольных, на 30%. Как следствие, время удвоения биомассы в опытах в 1,57 раза больше, чем в контроле. Сравнивая кривые роста биомассы на рисунке 6, удельную скорость роста культуры и времена удвоения биомассы, заключаем, что бесконтактная активация ингибирует рост клеток вида *Escherichia coli*. Кроме того, почти в 2 раза большее время удвоения клеток в опыте говорит о том, что угнетающее действие бесконтактной активации продолжается и в логарифмической фазе. Таким образом, предположение о том, что снижение ОВП в питательной среде путем БА приведет к улучшению роста культуры микроорганизма *Escherichia coli* не подтверждается экспериментальными данными. Возможно, что отрицательное действие оказывает присутствие большого числа продуктов распада кластеров воды - АФК, что является вполне вероятным, так как ток был отключен непосредственно перед погружением исследуемых культур в активный раствор.

На рисунке 8 приведено сравнение значений коэффициента вариации (CV, %) для каждой точки измерения.

Коэффициент в опыте всегда меньше контрольных значений, кроме точки «0,5 ч». То есть между пакетами внутри опытной группы выявлен меньший разброс данных. Такой результат позволяет предположить, что бесконтактная активация приводит к стабилизации роста культур клеток.

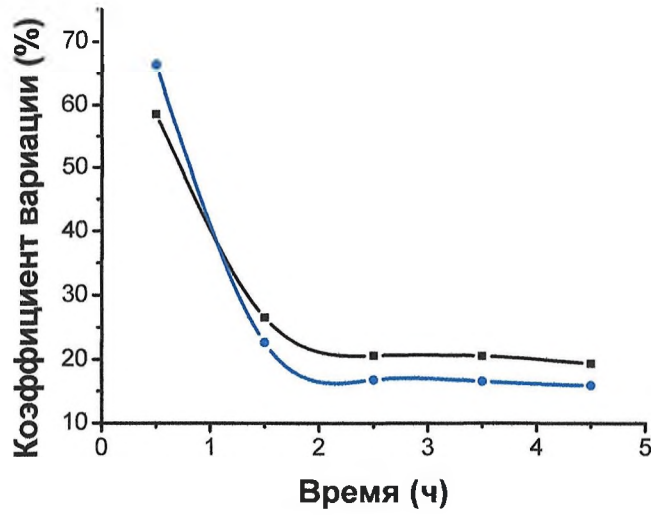

Рис. 8. Изменение средних значений коэффициента вариации в опытах по активации КЖ непосредственно после отключения тока: —■— –контроль; —●— – опыт.

3. 2. 2. Результаты опытов по активации культуральной жидкости после 5 часов релаксации активного раствора.

Результаты изменения биомассы во второй серии опытов представлены на рисунке 9.

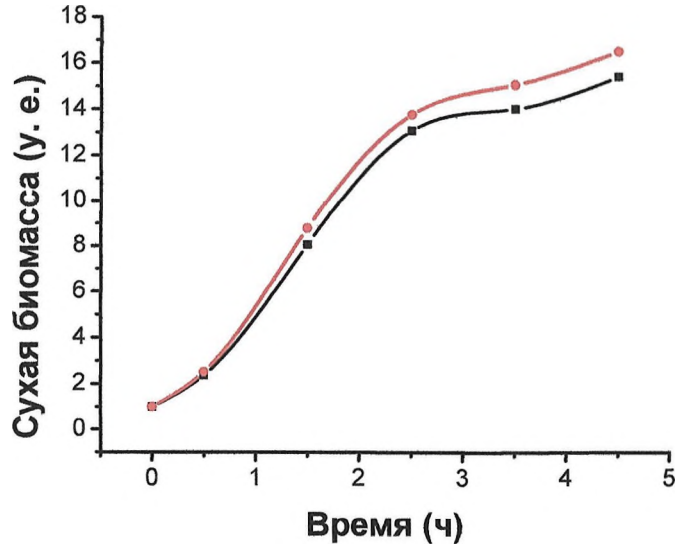

Рис. 9. Изменение кинетики роста клеток вида *Esherichia coli* в результате бесконтактной активации через 5 часов релаксации активного раствора: —■— –контроль; —●— – опыт.

На рисунке 9 видно, что в лаг-фазе и в начале логарифмической фазы кривые опыта и контроля совпадают, однако в стационарной фазе есть различия. Биомасса в опыте больше, чем в контроле.

Не смотря на графические различия по статистическим расчетам они не достоверны. В таблице 5 представлены рассчитанные значения коэффициента Стьюдента (см. приложение 1.).

Удельная скорость роста и время удвоения в логарифмической фазе. приведены в таблице 2.

Таблица 2.

Удельная скорость роста и время удвоения в логарифмической фазе в опытах серии II.

	Контроль	Опыт
Удельная скорость роста в логарифмической фазе	4,71	5,19
Время удвоения в логарифмической фазе	0,15	0,13

Время удвоения в контроле в серии II адекватно времени удвоения контроля серии I. Однако, в опыте серии II время удвоения немного меньше контрольного. Средняя удельная скорость роста в опыте больше, что соответствует графическим данным, приведенным на рисунке 9.

Результаты изменений ОВП в активном растворе и контрольной водопроводной воде приведены на рисунке 10. Кривая «Опыт» характеризует релаксацию активного раствора со временем, что характерно для любых ЭХА растворов. Изменения ОВП в контроле в точках 0-1,5 укладываются в погрешность показаний прибора для активированных сред (±30 мВ). Далее до конца времени опыта ОВП сильно снижался.

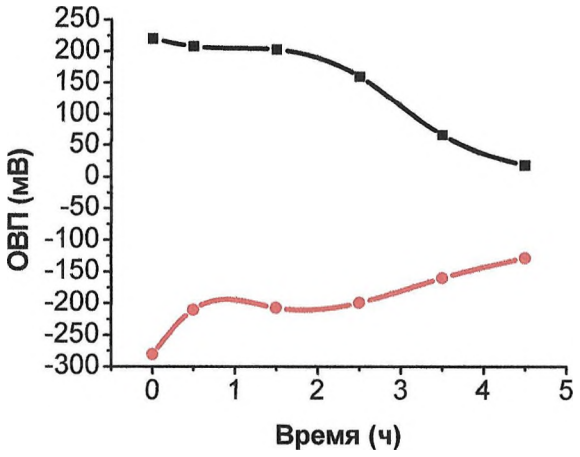

Рис. 10. Изменения значений ОВП в водопроводной воде в опытах серии 2: —■— –контроль; —●— – опыт.

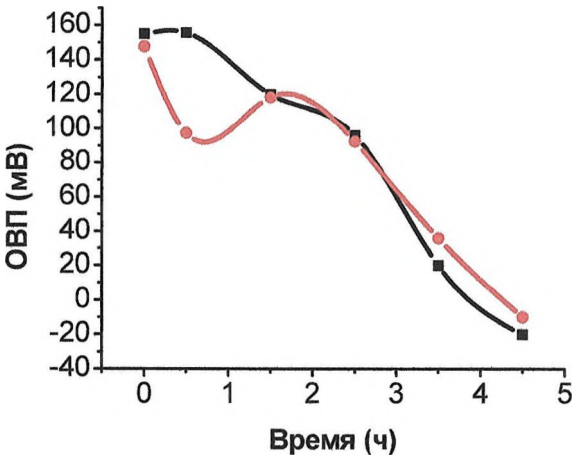

Рис. 11. Изменения значений ОВП в питательной среде в процессе роста клеток в опытах серии 2: —■— – контроль; —●— – опыт.

Изменения ОВП в питательной среде, где развивались культуры клеток представлены на рисунке 11.

На графике видно, что снижение ОВП характерно как для опыта так и для контроля в процессе роста клеток, что не противоречит данным других работ. Однако, в опыте эти изменения поначалу более резки, т. к. обусловлены бесконтактной активацией питательной среды.

Изменения pH в культуре клеток представлены на рисунке 12.

Значения pH в контроле превышают значения в опыте. Изгибы двух кривых схожи, и видно, что изгиб в точках 3,5-4,5 кривой «Опыт» завершается несколько раньше похожего изгиба кривой «Контроль». То есть кривые все больше расходятся к концу опыта в стационарной фазе роста культуры клеток.

На рисунке 13 приведено сравнение значений коэффициента вариации (CV, %).

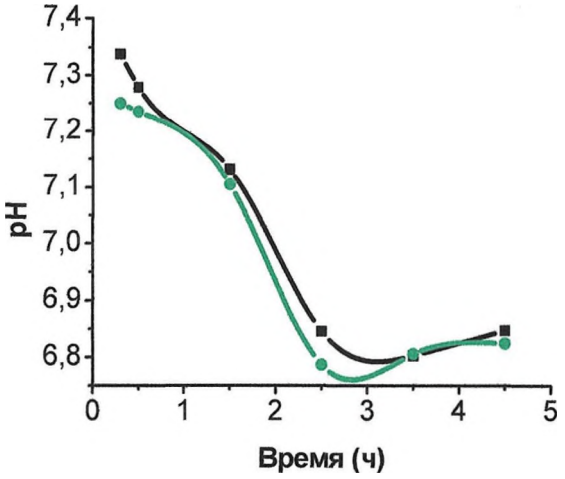

Рис. 12. Изменения pH в результате роста клеток в опытах серии II: —■— –контроль; —●— – опыт.

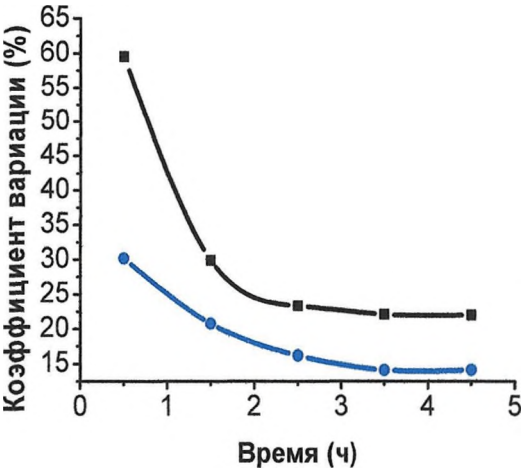

Рис. 13. Изменение средних значений коэффициента вариации в опытах серии II: —■— –контроль; —●— – опыт.

Как и в серии I наблюдается меньшая гетерогенность оптической плотности культур клеток в опыте, но в отличие от первой серии, не только в логарифмической и стационарной фазах, но на всем протяжении эксперимента.

Данные оптической плотности и рассчитанные значения биомассы культуры показывают об отсутствии угнетающего эффекта от БА, который наблюдался в первой серии опытов. Однако и эффект стимуляции роста в опыте статистически не подтверждается. О том, что угнетающее действие БА исчезает при условии релаксации активного раствора в течение 5 часов говорят так же похожее время удвоения в опыте и контроле и большая удельная скорость в опыте относительно контроля.

В контрольной водопроводной воде ОВП изменяется после отметки «1,5 ч», сильно снижаясь. В опытном активном растворе же наоборот ОВП растет, однако это не может быть объяснено обычной релаксацией, которая в норме проходит значительно медленнее. За 5 часов релаксации ОВП колеблется в пределах погрешности. Следовательно, изменения ОВП в

активном растворе и контрольной водопроводной воде связаны с присутствием культур клеток, находящихся в емкостях для БА.

Из данных коэффициента вариации, рассчитанного для каждой точки, видно, что эффект меньшей гетерогенности культуры в первой серии опытов подтверждается и во второй серии. Значения ОВП культуральной жидкости в опытах обеих серий сильно снижены благодаря БА. Мы предполагаем, что такое снижение ОВП путем БА приводит к стабилизации роста культур клеток, поэтому наблюдается меньший разброс данных из разных пакетов в опыте.

3. 2. 3. Результаты опытов по бесконтактной активации культуральной жидкости после 15 часов релаксации активного раствора.

Изменения кинетики роста *Esherichia coli* в опытах серии III приведены на рисунке 14.

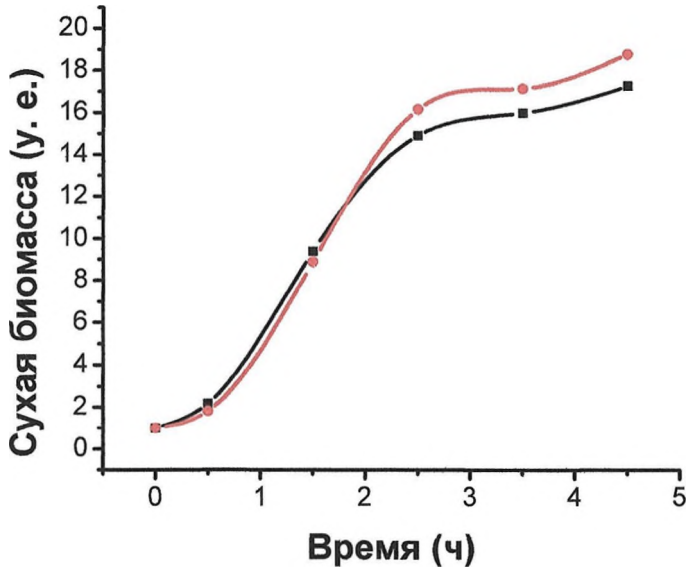

Рис. 14. Изменение кинетики роста клеток вида *Esherichia coli* в результате бесконтактной активации после 15 часов релаксации активного раствора: —■— –контроль; —●— – опыт.

В этой серии средние значения сухой биомассы клеток опыта и контроля в лаг- и лог- фазах еще больше совпадают, чем в опытах серии II.

Однако в стационарной фазе культура клеток в опыте достигает больших значений биомассы относительно контроля. Различия между опытом и контролем достоверны, о чем свидетельствуют данные приведенные в таблице 6 (см. приложение 1.).

Благодаря сглаживанию кривых видно, что контроль раньше выходит на плато и, как следствие, образует меньше биомассы. То есть результатом БА является удлинение логарифмической фазы роста.

Удельная скорость роста и время удвоения в логарифмической фазе. приведены в таблице 3.

Таблица 3.

Удельная скорость роста и время удвоения в логарифмической фазе в опытах серии III.

	Контроль	Опыт
Удельная скорость роста в логарифмической фазе	5,59	5,26
Время удвоения	0,12	0,13

Время удвоения в опыте незначительно больше, чем в контроле. А удельная скорость незначительно меньше. Эти данные свидетельствуют о схожести роста контроля и опыта в лог-фазе. Расхождение в удельной скорости скорее всего обязано неточному определению начала стационарной фазы, так как в соответствии с методикой пробы отбираются только раз в час.

Результаты изменений ОВП в активном растворе и контрольной водопроводной воде приведены на рисунке 15.

Активный раствор в опыте даже через 15 часов релаксации имеет сильно отрицательные значения ОВП. Изменения значений ОВП в контрольной водопроводной воде похожи на таковые в опытах серии II. Снижение ОВП в контрольной водопроводной воде мы связываем с присутствием культур клеток в емкостях для БА.

Изменения ОВП в питательной среде, где развивались культуры клеток представлены на рисунке 16.

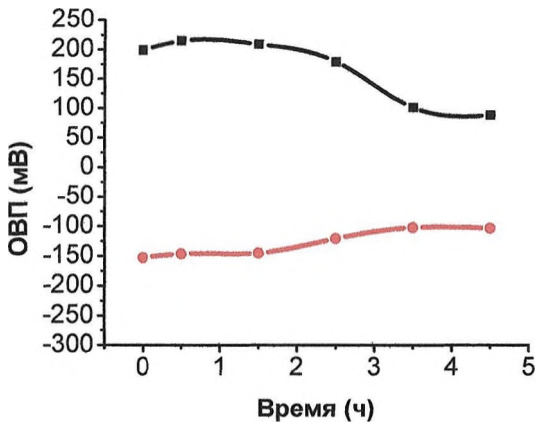

Рис. 15. Изменения значений ОВП в водопроводной воде в опытах серии III: —■— –контроль; —●— – опыт.

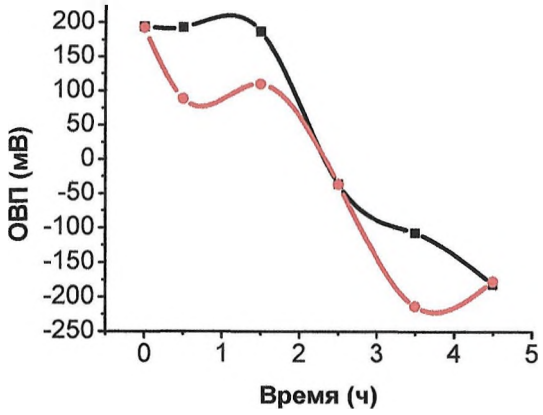

Рис. 16. Изменения значений ОВП в питательной среде в процессе роста клеток в опытах серии III: —■— –контроль; —●— – опыт.

По приведенным данным наблюдается такое же резкое снижение ОВП культуральной жидкости вначале опыта благодаря БА, как и в опытах второй серии. Однако, в отличие от результатов второй серии, кривые «Опыт» и «Контроль» расходятся в точке «3,5 ч». Следует заметить, что данные ОВП коррелируют с данными биомассы. На рисунках 14 и 16 кривые опыта и контроля расходятся в стационарной фазе. Можно предположить, что данные ОВП культуральной жидкости могут давать представление о состоянии культуры клеток.

Как и в серии II при снижении ОВП посредствам БА в культуральной жидкости ОВП не продолжает планомерно снижаться в процессе умножения клеток, а стремится приблизиться к контрольным значениям. В результате этого, две кривые до начала стационарной фазы (точка «2,5 ч») сливаются. Это может означать, что каждой стадии роста соответствуют определенные значения ОВП, к которым стремится культура клеток.

Изменения pH в культуре клеток представлены на рисунке 17.

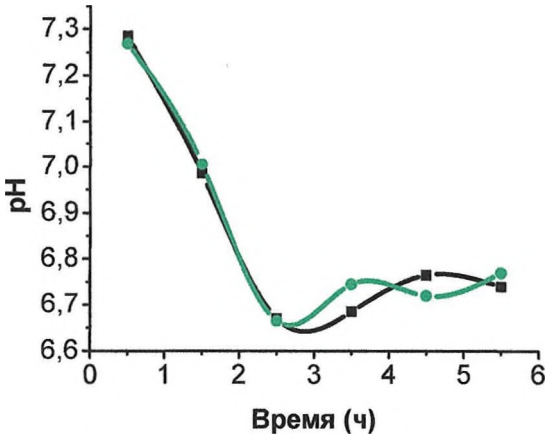

Рис.17. Изменения pH в результате роста клеток в опытах серии III: —■— –контроль; —●— – опыт.

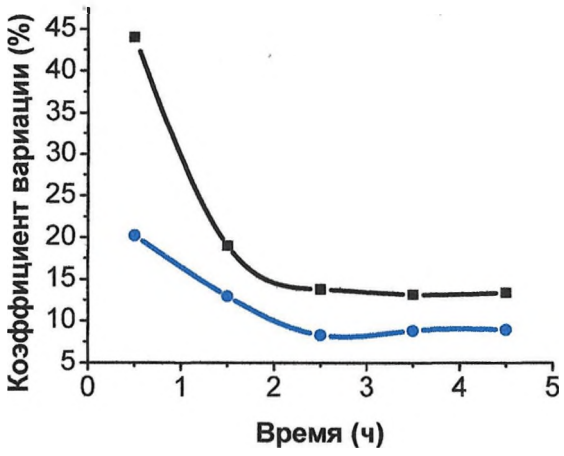

Рис. 18. Изменение средних значений коэффициента вариации в опытах серии III: —■— –контроль; —●— – опыт.

В этой серии измерения pH были на час продлены по сравнению с опытами предыдущей серии. При схожести значений в первой половине опыта, во второй наблюдается похожий на результат второй серии сдвиг кривых, когда пик кривой «Опыт» появляется раньше (3,5 ч) похожего пика у кривой «Контроль» (4,5 ч).

На рисунке 18 приведено сравнение значений коэффициента вариации (CV, %) для каждой точки измерения.

Так же как и в двух предыдущих сериях по данным изменения коэффициента вариации разброс данных в опыте меньше, чем в контроле. Что говорит о влиянии постоянного фактора при БА. Во всех сериях это искусственно пониженный ОВП культуральной жидкости в опыте на начальных стадиях роста.

3. 2. 4. Обобщение результатов трех серий опытов

На рисунке 19 представлены значения удельной скорости роста клеток в лог-фазе, обобщенные для трех серий опытов:

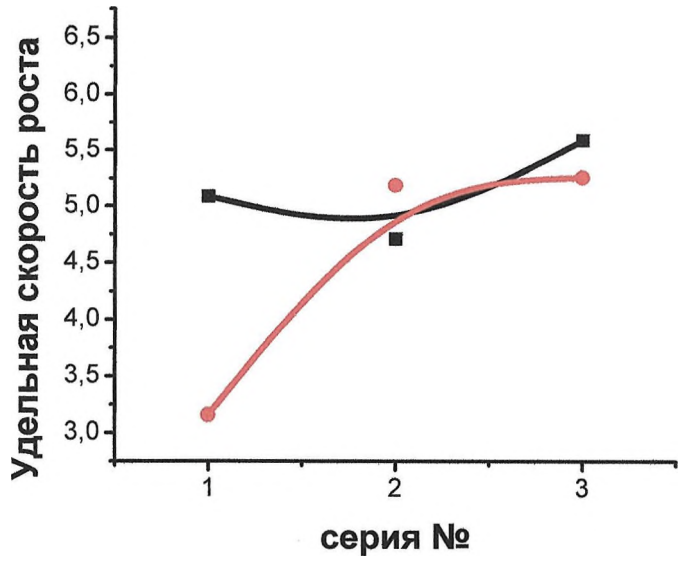

Рис. 19. Изменение удельной скорости роста в лог-фазе в зависимости от времени релаксации активного раствора: —■— –контроль; —●— – опыт.

Из сочетания кривых на графике видно как уменьшается разница между ними с увеличением времени релаксации активного раствора. В первой серии опытов сильное отличие от контроля связано с угнетением роста клеток. Во второй серии мы наблюдаем сближение кривых, что говорит о том, что угнетающий фактор в опыте отсутствует. В третьей серии опытов разница есть, но незначительная. Это подтверждает, что увеличение биомассы клеток относительно контроля в третьей серии опытов осуществляется скорее всего за счет продления лог-фазы, но не за счет ускорения роста клеток.

Выводы

1. Разработана методика по влиянию БА воды на культуру клеток кишечной палочки.

2. Исследование кинетики роста культуры *Escherichia coli* при бесконтактной активации культуральной жидкости непосредственно после отключения электролизера выявило, что в результате воздействия угнетается рост клеток, уменьшается скорость роста на самых начальных стадиях. Ингибирование роста продолжается и в последующих стадиях.

3. Исследование кинетики роста культуры *Escherichia coli* при бесконтактной активации культуральной жидкости после 5 часов релаксации активного раствора не выявило ни угнетающего ни стимулирующего эффектов.

4. Исследование кинетики роста при бесконтактной активации культуральной жидкости после 15 часов релаксации активного раствора выявило положительное влияние на рост микроорганизмов *Esherichia coli*, которое проявлялось в достижении больших значений биомассы в опыте относительно контроля за одно и то же время.

5. Выяснено, что при понижении ОВП культуральной жидкости методом БА вне зависимости от времени релаксации активного раствора стабилизируется рост клеток вида *Esherichia coli*, благодаря чему наблюдается меньший разброс данных оптической плотности внутри опытной группы.

Список литературы

1. Акопян С. Н., Айрапетян С. Н. Исследование удельной электропроводности воды при воздействии постоянного магнитного поля, электромагнитного поля и низкочастотных механических колебаний. Биофизика, 2005, Т. 50, вып. 2, с. 265-270.
2. Алехин С. А., Гительман Д. С., Островский И.Б. Исследования антихолерного действия анолита, полученного на аппаратах типа "ЭСПЕРО". Сборник МИС-РТ №14, http://ikar.udm.ru/sb14.htm.
3. Алехин С.А., Байбеков И.М. "Живая" вода - миф или реальность. // Эл. вариант: Журнал МИС-РТ, 1998, сб. № 6. http://www.udpark.ru/misrt/sb6.htm
4. Алешукина А. В. Медицинская микробиология. Учебное пособие, Ростов н/Д: Феникс, 2003. – 480 с.
5. Апаликов М. А., Рябов А. Г., Зотеев В. С., Ульянов. Ю.Н. Влияние электрохимического активированного раствора на откормочные качества свиней. Эл. вариант: журнал "МИС-РТ" - 2002 г. Сборник №25-3, http://ikar.udm.ru/sb25-3.htm
6. Бауэр Э. С. Теоретическая биология. М.; Л.: Издательство ВИЭМ, 1935.
7. Бахир В. М. История и сущность. - М.: 1992. - 11 с.
8. Бахир В. М. Электрохимическая активация. - М.: ВНИИИМТ НПО "ЭКРАН", 1992. - 401 с.
9. Бейли Дж., Оллис Д., Основы биохимической инженерии. Пер. с англ. В 2-х частях. Ч. 1. – М.: Мир, 1989. – 692 с., ил.
10. Бернал Д. П., Фаулер Р.Г. Успехи физ. наук. 14, 586, 1934.
11. Бурлакова Е. Б., Конрадов А. А. Мальцева Е. Л. Сверхслабые воздействия химических соединений и физических факторов на биологические системы. Биофизика, 2004, Т. 49, вып. 3, с 551-564.

12. Владимиров Ю. А., Клебанов Г. И., Борисенко Г. Г., Осипов А. Н. Молекулярно-клеточные механизмы действия низкоинтенсивного лазерного излучения. Биофизика, 2004, Т. 49, вып. 2, с. 339-350.

13. Вода – космическое явление, под ред. Рахманина Ю. А., Кондратова В. К., М.: РАЕН, РАМН, 2002 г.

14. Воейков В. Л. Благотворная роль активных форм кислорода. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии, 2001, Т. XI, № 4.

15. Воейков В. Л. Регуляторные функции активных форм кислорода в крови и водных модельных системах, диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук. М, 2003, МГУ им. М. В. Ломоносова.

16. Второй съезд биофизиков России. Действие физико-химических факторов на биологические системы. http://www.biophys.msu.ru/conferen/99_bpii/10_OBZOR/10_Otchet.htm#a.

17. Второй съезд биофизиков России. Новые методы в биофизике. http://www.biophys.msu.ru/conferen/99_bpii/10_OBZOR/10_Otchet.htm#a.

18. Гак Е.З., Девятов В.А., Петров С.В. Перспективы применения электроактивированных растворов в медицине и санитарии. Тезисы докладов на Международной конференции Алушта, 1992. С. 47-48.

19. Гудкова О. Ю., Гудков С. В., Гапеев А. Б., Брусков В. И., Рубаник А. В., Чемерис Н. К. Исследование механизмов образования активных форм кислорода в водных растворах под действием импульсного электромагнитного излучения крайне высоких частот с большой пиковой мощностью. Биофизика, 2005, Т 50, вып. 5, с. 773-779

20. Дезинфицирующая установка СТЭЛ (патент России № 2096529)

21. Дубровская О.А., Мулахметов Р.Ф., Широносов В.Г. Феномен бесконтактной активации от микрогидрина и при химических реакциях. Екатеринбург.: Сборник тезисов ВНКСФ-8. 2002. - 597-599 с.

22. Дубровская О.А., Широносов В.Г. Влияние электроактивированных водных растворов (ЭВР) на всхожесть семян ячменя. Ижевск: Изд-во Удм. ун-та.: Тезисы докладов 4-й Российской Университетско-Академической Научно-практической конференции Ч. 2/ Отв.ред.В.А.Журавлев, С.С.Савинский. 1999. - 92-93 с.

23. Еськов Е. К., Дарков А. В., Швецов Г. А., Зависимость магнитной восприимчивости различных биообъектов от их физиологического состояния и жизнеспособности. Биофизика, 2005, Т. 50, вып. 2, с. 357-360.

24. Зенин С. В. Структурированное состояние воды, как основа управления поведением и безопасностью живых систем, автореферат диссертации. Институт биохимической физики РАН, 1999.-38 с.

25. Иванов А. Ю., Мирошников А. И., О флуоресценции бидистиллированной воды после электрохимической обработки. Биофизика, Т. 51, вып 2, с 204-206.

26. Ипполитов Е. Г., Артемов А. В., Батраков В. В. Физическая химия. М.: «Academia», 2005 г.

27. Исайкин В. А. Методика и техника измерений поверхностных биопотенциалов внутри орагнизма человека. Измерительная техника 1987, №12, с. 43-45.

28. Исаханян В., Тручан А., Опосредованное и повторное воздействие электромагнитного излучения крайне высоких частот на бактерии *Escherichia coli*. Биофизика, 2005, Т. 50, вып. 4, с. 689-692.

29. Казанкин Д. С. Бактерицидное действие анолита в аспекте биологии и экологии микроорганизмов. МИС-РТ - 2000 г. Сборник №17-2, http://ikar.udm.ru/sb17-2.htm.

30. Казанкин Д. С. Феномен бесконтактного действия электрохимически активированных водных растворов на динамику оседания эритроцитов. Екатеринбург.: Сборник тезисов ВНКСФ-10. 2004. - 822-824 с.

31. Казанкин Д.С., Широносов В.Г. Исследование влияния бесконтактно активированной воды на электрокинетические свойства дрожжевых клеток. Сборник тезисов III Международный симпозиум. Электрохимическая активация в медицине, сельском хозяйстве, промышленности. Москва, 2002.- с.190-194.

32. Калинин Л. Г., Бошкова И. Л., Панченко Г. И., Коломийчук С. Г. Влияние низкочастотного и высокочастотного электромагнитного поля на семена. Биофизика, Т. 50, вып. 2, 2005 с. 361-366

33. Киракосян Г., Баграмян К., Трчунян А., Влияние восстановителя тиоловых групп на окислительно-восстановительный потенциал и рост бактерий *Escherichia coli* в анаэробных условиях при различных pH среды. Биофизика, 2005, том 50, вып. 6, с. 1095-1099.

34. Кузнецов А. Н., Турковский И. И., Парамонов Б. А., Харин В. Н., Кузнецов Н. В., Волкова И. А. КВЧ-диэлектрометрия при оценке структурной организации растворов солей и тканевых жилкостей здоровой и рубцовой ткани. Биофизика, Т. 49, вып. 4, 2004, с. 727-731.

35. Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: «Высшая школа», 1980.

36. Леонов Б. И., Прилуцкий В. И., Бахир В. М., Физико-химические аспекты биологического действия электрохимически активированной воды. - М.: Академия медико-технических наук РФ. 1999.

37. Лобышев В. И., Томкевич М. С., Петрушанко И. Ю. Экспериментальное исследование потенцированных водных растворов. Биофизика, Т. 50, вып 3, 2005, с. 464-469.

38. Материалы II международного симпозиума «Электрохимическая активация в медицине, сельском хозяйстве, промышленности». М.: ВНИИ Медтехники, 1999.

39. Методы общей бактериологии, под ред. Герхардта и др., изд-во «Мир», М.: 1983 г.

40. Мецлер Д., Биохимия: химические реакции в живой клетке, Т. 1, изд-во "Мир", М.: 1980 г.

41. Мирошников А. И. Исследование причин биологического действия электрохимически активированных растворов по изменению роста клеток *Esherichia coli*. Биофизика, Т. 49, вып. 5, 2004, с. 866-871.

42. Мирошников А. И. Стимуляция и ингибирование роста клеток *Esherichia coli* при выращивании в католите и анолите питательной среды. Биофизика, 2002, Т. 47, вып. 2, с. 304-308.

43. Мирошников А. И., Биофизика, 1997, Т. 42, вып. 4., с. 979-984.

44. Мирошников А. И., Биофизика, 1998, Т. 43, вып. 6, с. 1032-1036.

45. Мирошников А. И., Масалимов Ж. К., Брусков В. И. Содержание перекиси водорода в электрохимически активированных растворах и исследование ее влияния на рост клеток *Esherichia Coli*. Биофизика, 2004, Т. 49, вып. 1, с. 32-37.

46. Мирошников А.И. Влияние режима обработки католита и анолита питательной среды и условий культивирования на рост клеток *Escherihia Coli*. МИС-РТ - 1999. Сборник №21-2.

47. Петрушенко И. Ю., Лобышев В. И. Физико-химические свойства водных растворов, полученных в мембранном электролизере. Биофизика. Т. 49, вып. 1, с 22-31.

48.Привалов П. Л., Вода и ее роль в биологических системах, Биофизика т.13, вып. 1, 1968г. с. 163 -177.

49.Прилуцкий В.И. Пределы выживания изолированных клеток в электрохимически активированных средах. Электрохимическая активация - 99. Второй международный симпозиум "Электрохимическя активация в медицине, сельском хозяйстве, промышленности", Москва 28-29 октября 1999 г. Доклады и тезисы. В 2-х частях. Часть II, М.: всеросийский научно-исследовательский и испытательный институт медицинской техники. 1999. 122с.

50.Прилуцкий В.И., Бахир В.М. Электрохимически активированная вода: Аномальные свойства, механизм биологического действия, М., ВНИИИМТ АО НПО "Экран". 1997. - 228 с.

51.Рубин А. Б. Биофизика. Кн.1 теоретическая биофизика. - М.: Высш. Шк., 1987 - 319 с.

52.Руководство к практическим занятиям по микробиологии, под ред. Егорова Н. С., М.: МГУ – 1995 г.

53.Синюков В. В. Вода известная и неизвестная. - М.: Знание, 1987. – 284 с.

54.Слесарев В. И., Шабров А. В. Влияние структуры воды на ее статические и динамические свойства. II Международный Конгресс "Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине". - М.: Знание, 1987. - 284 с.

55.Смирнов А.Н., Лапшин В.Б., Балышев А.В., Лебедев И.М., Сыроешкин А.В. Супранадмолекулярные комплексы воды. Электронный журнал "ИССЛЕДОВАНО В РОССИИ" http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2004/038.pdf 413

56.Соколов Н.Д., в сб.: Водородная связь, «Наука», М., 1964

57. Сумаруков Г.В. Окислительное равновесие и радиочувствительность организмов. Атомиздат. Москва. 1970. с.4.

58. Сусак И. П., Пономарев О. А., Шигаев А. С. О первичных механизмах воздействия электромагнитных полей на биологические объекты. Биофизика, 2005, Т. 50, вып. 2, 2005. с. 367-370.

59. Тимонов А.М. Твердые полимерные электролиты: структура, свойства и применение. СОЖ 2000, №8, с. 69-75.

60. Тимонов А.М., Васильева С.В. Электронная проводимость полимерных соединений. СОЖ 2000, №3, с. 37.

61. Узденский А. Б. О биологическом действии сверхнизкочастотных магнитных полей: резонансные механизмы и их реализация в клетках. Биофизика, 2000, том 45, вып. 5, с. 888-893.

62. Фесенко Е.Е., Новиков В. В., Кувичкин В. В., Яблокова Е. В. Действие обработанных слабыми магнитными полями водно-солевых растворов на собственную флуоресценцию бычьего сывороточного альбумина. Характеристика биологически активной флуоресцирующей фракции. Биофизика, 2000, том 45, вып. 2, с. 232-239.

63. Фесенко Е.Е., Терпугов Е.Л. О необычных спектральных свойствах воды в тонком слое. Биофизика, 1999, Т. 44, вып. 1, 5-9 с.

64. Цейтлин Н. А. Из опыта аналитического статистика. http://ore13.rsl.ru/nettext/russian/tseitlin/index.htm.

65. Широносов В.Г., Задача двух магнитных диполей с учетом уравнений движений спинов. Изв. вузов, Физика, 74-78. 1985.

66. Широносов В.Г., Меньшикова С.Г., Широносов Е.В. Бесконтактная активация крови. Сборник тезисов III Международный симпозиум. Электрохимическая активация в медицине, сельском хозяйстве, промышленности. г. Москва, 2002.- с.110-114.

67. Широносов В.Г. Резонанс в физике, химии и биологии, Ижевск, Изд. дом «'Удмуртский университет». 2001.

68. Широносов В.Г., Широносов Е.В., Опыты по бесконтактной электрохимической активации воды, сб. докл. 2-й Межд. Симп. Электрохимическая активация в медицине, сельском хозяйстве, промышленности. - М.; ВНИИИМТ АО НПО "Экран", Ч 1, 66-68 (1999).

69. Эфендиев М. Б., Чалкин С. Ф., Казарин Л. А., Ягужинский Л. С. ИК-люминисценция водных структур с низкой устойчивастью (теория, эксперимент). Биофизика, Т. 49, вып. 6, 2004, с. 965-969.

70. Bernal S.P., Fouler R.H., J. Chem. Phys., 1, 515, 1933.

71. Conway B.E., McBokris S.O., Linton H., J. Chem. Phys., 24, 834, 1956

72. Merzberg G., Infrared and Raman Spectre of Polyatomic Molecules, N.Y., 1945.

73. Nakagawara S., Goto T., Nara M., Ozawa Y., et al., Analytical Sciences, 1998, V. 14, P. 691-698.

74. http://water.ru.

Приложение

Приложение 1. Коэффициент Стьюдента.

Таблица 4.

Достоверность различий между опытом и контролем в серии 1.

Время, ч. (Характеризует положение исследуемых точек на графике (*Рис. 6.*))	1,5	2,5	3,5	4,5
t (рассчитанное)	3,32	3,53	3,27	3,35
t (критическое, P=0,05)	2,2	2,2	2,2	2,2
t (критическое, P=0,01)	3,11	3,11	3,11	3,11

Таблица 5.

Достоверность различий между опытом и контролем в серии 2.

Время, ч. (Характеризует положение исследуемых точек на графике (*Рис. 9.*))	1,5	2,5	3,5	4,5
t (рассчитанное)	0,98	0,83	1,05	0,99
t (критическое, P=0,05)	2,31	2,31	2,37	2,37
t (критическое, P=0,01)	3,36	3,36	3,50	3,50

Таблица 6.

Достоверность различий между опытом и контролем в серии 3.

Время, ч. (Характеризует положение исследуемых точек на графике (*Рис. 14*)	1,5	2,5	3,5	4,5
t (рассчитанное)	0,07	2,60	2,28	2,40
t (критическое, P=0,05)	2,20	2,23	2,18	2,18
t (критическое, P=0,01)	3,11	3,17	3,05	3,05

Приложение 2. Исходные данные оптической плотности и рассчитанная сухая биомасса

Таблица 7.

Опыт №1, Серия 1.

Контроль

Время, ч	Емкость с КЖ №1				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	81,70	1,03	0,01	6,40	1,00
0,50	79,98	1,05	0,02	10,61	1,66
1,50	69,92	1,21	0,08	35,86	5,60
2,50	58,03	1,45	0,16	67,61	10,56
3,50	55,93	1,51	0,18	73,52	11,48
4,50	51,93	1,62	0,21	85,14	13,30
Время, ч	Емкость с КЖ №3				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	83,19	1,01	0,01	2,78	1,00
0,50	81,48	1,03	0,01	6,94	2,50
1,50	71,35	1,18	0,07	32,20	11,59
2,50	59,55	1,42	0,15	63,39	22,82
3,50	56,01	1,50	0,18	73,30	26,38
4,50	52,78	1,60	0,20	82,63	29,74
Время, ч	Емкость с КЖ №5				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	83,69	1,01	0,00	1,57	1,00
0,50	81,99	1,03	0,01	5,70	3,64
1,50	72,06	1,17	0,07	30,39	19,40
2,50	59,43	1,42	0,15	63,72	40,68
3,50	55,71	1,51	0,18	74,15	47,34
4,50	52,70	1,60	0,20	82,87	52,91
I_o,%	84,27				

Опыт

Время, ч	Емкость с КЖ №2				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	81,91	1,03	0,01	5,89	1,00
0,50	80,79	1,04	0,02	8,63	1,46
1,50	71,81	1,17	0,07	31,02	5,27
2,50	58,48	1,44	0,16	66,35	11,26
3,50	54,97	1,53	0,19	76,27	12,95
4,50	52,08	1,62	0,21	84,70	14,38
Время, ч	Емкость с КЖ №4				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	82,67	1,02	0,01	4,04	1,00
0,50	81,78	1,03	0,01	6,21	1,54
1,50	72,55	1,16	0,07	29,14	7,21
2,50	59,30	1,42	0,15	64,08	15,86
3,50	56,13	1,50	0,18	72,95	18,05
4,50	53,12	1,59	0,20	81,63	20,20
Время, ч	Емкость с КЖ №6				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	82,83	1,02	0,01	3,65	1,00
0,50	80,05	1,05	0,02	10,44	2,86
1,50	69,51	1,21	0,08	36,91	10,11
2,50	59,32	1,42	0,15	64,03	17,53
3,50	55,49	1,52	0,18	74,78	20,47
4,50	51,33	1,64	0,22	86,93	23,80

Таблица 8.

Опыт №2, Серия 1.

Контроль

Время, ч	Емкость с КЖ №1				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	83,20	1,04	0,02	8,25	1,00
0,50	82,51	1,05	0,02	9,90	1,20
1,50	72,19	1,20	0,08	35,06	4,25
2,50	59,11	1,47	0,17	69,07	8,37
3,50	56,37	1,54	0,19	76,64	9,29
4,50	52,59	1,65	0,22	87,43	10,59
Время, ч	Емкость с КЖ №3				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	83,84	1,03	0,01	6,73	1,00
0,50	82,73	1,05	0,02	9,37	1,39
1,50	73,48	1,18	0,07	31,85	4,73
2,50	59,89	1,45	0,16	66,95	9,95
3,50	57,58	1,50	0,18	73,27	10,88
4,50	53,08	1,63	0,21	86,01	12,78
Время, ч	Емкость с КЖ №5				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	83,88	1,03	0,01	6,64	1,00
0,50	82,30	1,05	0,02	10,40	1,57
1,50	71,91	1,20	0,08	35,76	5,39
2,50	59,67	1,45	0,16	67,55	10,18
3,50	56,76	1,53	0,18	75,55	11,38
4,50	52,87	1,64	0,21	86,62	13,05
I_o,%	86,62				

Опыт

Время, ч	Емкость с КЖ №2				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	81,60	1,06	0,03	12,07	1,00
0,50	80,40	1,08	0,03	14,95	1,24
1,50	69,72	1,24	0,09	41,27	3,42
2,50	58,92	1,47	0,17	69,59	5,76
3,50	55,50	1,56	0,19	79,08	6,55
4,50	51,90	1,67	0,22	89,45	7,41
Время, ч	Емкость с КЖ №4				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	82,33	1,05	0,02	10,33	1,00
0,50	81,27	1,07	0,03	12,86	1,25
1,50	71,59	1,21	0,08	36,56	3,54
2,50	59,12	1,47	0,17	69,04	6,69
3,50	56,07	1,54	0,19	77,48	7,50
4,50	52,19	1,66	0,22	88,60	8,58
Время, ч	Емкость с КЖ №6				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	83,40	1,04	0,02	7,78	1,00
0,50	82,68	1,05	0,02	9,49	1,22
1,50	72,50	1,19	0,08	34,28	4,41
2,50	59,05	1,47	0,17	69,24	8,90
3,50	56,70	1,53	0,18	75,72	9,74
4,50	52,69	1,64	0,22	87,14	11,20

Таблица 9.

Опыт №3, Серия 1.

Контроль

Время, ч	Емкость с КЖ №1				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	82,67	1,02	0,01	5,06	1,00
0,50	81,78	1,04	0,02	7,22	1,43
1,50	72,55	1,17	0,07	30,08	5,94
2,50	59,30	1,43	0,15	64,91	12,82
3,50	56,13	1,51	0,18	73,77	14,57
4,50	53,12	1,59	0,20	82,43	16,28
Время, ч	Емкость с КЖ №3				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	83,69	1,01	0,01	2,60	1,00
0,50	81,99	1,03	0,01	6,71	2,59
1,50	72,06	1,18	0,07	31,32	12,06
2,50	59,43	1,43	0,15	64,56	24,87
3,50	55,71	1,52	0,18	74,96	28,87
4,50	52,70	1,61	0,21	83,66	32,22
Время, ч	Емкость с КЖ №5				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	83,19	1,02	0,01	3,80	1,00
0,50	81,48	1,04	0,02	7,95	2,09
1,50	71,35	1,19	0,07	33,12	8,71
2,50	59,55	1,42	0,15	64,23	16,88
3,50	56,01	1,51	0,18	74,11	19,48
4,50	52,78	1,60	0,21	83,42	21,93
I_o,%	84,7				

Опыт

Время, ч	Емкость с КЖ №2				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	82,83	1,02	0,01	4,67	1,00
0,50	80,05	1,06	0,02	11,44	2,45
1,50	69,51	1,22	0,09	37,82	8,09
2,50	59,32	1,43	0,15	64,86	13,87
3,50	55,49	1,53	0,18	75,58	16,17
4,50	51,33	1,65	0,22	87,71	18,76
Время, ч	Емкость с КЖ №4				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	81,70	1,04	0,02	7,42	1,00
0,50	79,98	1,06	0,02	11,61	1,57
1,50	69,92	1,21	0,08	36,77	4,96
2,50	58,03	1,46	0,16	68,43	9,23
3,50	55,95	1,51	0,18	74,28	10,02
4,50	51,93	1,63	0,21	85,93	11,59
Время, ч	Емкость с КЖ №6				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	81,91	1,03	0,01	6,91	1,00
0,50	80,79	1,05	0,02	9,63	1,39
1,50	71,81	1,18	0,07	31,95	4,63
2,50	58,48	1,45	0,16	67,18	9,73
3,50	54,97	1,54	0,19	77,07	11,16
4,50	52,08	1,63	0,21	85,48	12,38

Таблица 10.

Опыт №2, Серия 2.

Контроль

Время, ч	Емкость с КЖ №1				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	80,08	1,02	0,01	4,46	1,00
0,50	75,63	1,08	0,03	15,71	3,52
1,50	58,80	1,39	0,14	60,58	13,58
2,50	44,51	1,84	0,26	103,93	23,31
3,50	42,02	1,95	0,29	112,40	25,21
4,50	38,96	2,10	0,32	123,39	27,67
Время, ч	Емкость с КЖ №3				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	76,83	1,06	0,03	12,65	1,00
0,50	71,15	1,15	0,06	27,25	2,15
1,50	54,73	1,49	0,17	72,24	5,71
2,50	42,62	1,92	0,28	110,32	8,72
3,50	41,78	1,96	0,29	113,24	8,95
4,50	38,96	2,10	0,32	123,39	9,75
Время, ч	Емкость с КЖ №5				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	80,07	1,02	0,01	4,48	1,00
0,50	74,70	1,10	0,04	18,08	4,03
1,50	56,60	1,45	0,16	66,83	14,90
2,50	46,53	1,76	0,25	97,31	21,70
3,50	45,83	1,78	0,25	99,58	22,21
4,50	42,02	1,95	0,29	112,40	25,06
I_o,%	81,8				

Опыт

Время, ч	Емкость с КЖ №2				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	79,42	1,03	0,01	6,12	1,00
0,50	75,01	1,09	0,04	17,29	2,83
1,50	55,10	1,48	0,17	71,16	11,64
2,50	44,98	1,82	0,26	102,37	16,74
3,50	43,04	1,90	0,28	108,88	17,81
4,50	39,56	2,07	0,32	121,18	19,82
Время, ч	Емкость с КЖ №4				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	79,76	1,03	0,01	5,26	1,00
0,50	75,11	1,09	0,04	17,03	3,24
1,50	56,99	1,44	0,16	65,71	12,49
2,50	43,90	1,86	0,27	105,97	20,14
3,50	42,24	1,94	0,29	111,64	21,22
4,50	39,24	2,08	0,32	122,36	23,25
Время, ч	Емкость с КЖ №6				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	79,39	1,03	0,01	6,19	1,00
0,50	74,44	1,10	0,04	18,75	3,03
1,50	55,37	1,48	0,17	70,38	11,37
2,50	44,01	1,86	0,27	105,60	17,06
3,50	42,88	1,91	0,28	109,43	17,68
4,50	39,53	2,07	0,32	121,29	19,59

Таблица 11.

Опыт №3, Серия 2.

Контроль

Время, ч	Емкость с КЖ №1				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	76,01	1,06	0,02	11,52	1,00
0,50	73,52	1,09	0,04	17,97	1,56
1,50	56,65	1,42	0,15	63,99	5,55
2,50	41,23	1,95	0,29	112,76	9,79
3,50	37,51	2,15	0,33	126,49	10,98
4,50	34,82	2,31	0,36	137,22	11,91
Время, ч	Емкость с КЖ №3				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	74,32	1,08	0,03	15,89	1,00
0,50	71,27	1,13	0,05	23,86	1,50
1,50	54,83	1,47	0,17	69,30	4,36
2,50	40,23	2,00	0,30	116,34	7,32
3,50	35,50	2,27	0,36	134,43	8,46
4,50	32,88	2,45	0,39	145,49	9,16
Время, ч	Емкость с КЖ №5				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	74,19	1,08	0,04	16,23	1,00
0,50	71,41	1,13	0,05	23,49	1,45
1,50	54,75	1,47	0,17	69,53	4,28
2,50	38,73	2,08	0,32	121,86	7,51
3,50	35,85	2,24	0,35	133,02	8,20
4,50	33,26	2,42	0,38	143,83	8,86
I_o,%	80,46				

Опыт

Время, ч	Емкость с КЖ №2				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	76,30	1,05	0,02	10,78	1,00
0,50	71,84	1,12	0,05	22,36	2,07
1,50	55,05	1,46	0,16	68,65	6,37
2,50	40,19	2,00	0,30	116,49	10,81
3,50	34,74	2,32	0,36	137,55	12,76
4,50	32,55	2,47	0,39	146,95	13,63
Время, ч	Емкость с КЖ №4				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	74,23	1,08	0,04	16,12	1,00
0,50	70,39	1,14	0,06	26,18	1,62
1,50	53,70	1,50	0,18	72,63	4,50
2,50	39,57	2,03	0,31	118,75	7,36
3,50	34,38	2,34	0,37	139,05	8,62
4,50	31,46	2,56	0,41	151,88	9,42
Время, ч	Емкость с КЖ №6				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	76,18	1,06	0,02	11,09	1,00
0,50	70,83	1,14	0,06	25,02	2,26
1,50	54,33	1,48	0,17	70,77	6,38
2,50	40,42	1,99	0,30	115,66	10,43
3,50	35,34	2,28	0,36	135,08	12,18
4,50	32,67	2,46	0,39	146,41	13,21

Таблица 12.

Опыт №1, Серия 3.

Контроль

Время, ч	Емкость с КЖ №1				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	77,85	1,06	0,02	11,12	1,00
0,50	75,47	1,09	0,04	17,15	1,54
1,50	59,29	1,39	0,14	60,09	5,40
2,50	46,64	1,76	0,25	97,76	8,79
3,50	43,05	1,91	0,28	109,64	9,86
4,50	42,47	1,94	0,29	111,63	10,03
Время, ч	Емкость с КЖ №3				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	78,66	1,05	0,02	9,09	1,00
0,50	76,09	1,08	0,03	15,57	1,71
1,50	61,30	1,34	0,13	54,52	6,00
2,50	47,74	1,72	0,24	94,26	10,37
3,50	44,73	1,84	0,26	103,99	11,44
4,50	41,94	1,96	0,29	113,46	12,48
Время, ч	Емкость с КЖ №5				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	79,31	1,04	0,02	7,46	1,00
0,50	76,31	1,08	0,03	15,01	2,01
1,50	60,85	1,35	0,13	55,76	7,48
2,50	47,53	1,73	0,24	94,92	12,73
3,50	44,27	1,86	0,27	105,52	14,15
4,50	41,48	1,98	0,30	115,07	15,43
I_o,%	82,24				

Опыт

Время, ч	Емкость с КЖ №2				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	78,06	1,05	0,02	10,60	1,00
0,50	76,54	1,07	0,03	14,43	1,36
1,50	63,18	1,30	0,11	49,38	4,66
2,50	45,23	1,82	0,26	102,34	9,66
3,50	44,51	1,85	0,27	104,72	9,88
4,50	42,22	1,95	0,29	112,49	10,62
Время, ч	Емкость с КЖ №4				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	79,84	1,03	0,01	6,13	1,00
0,50	77,81	1,06	0,02	11,23	1,83
1,50	63,78	1,29	0,11	47,75	7,79
2,50	46,92	1,75	0,24	96,87	15,79
3,50	45,18	1,82	0,26	102,51	16,71
4,50	42,63	1,93	0,29	111,08	18,11
Время, ч	Емкость с КЖ №6				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	79,83	1,03	0,01	6,16	1,00
0,50	77,67	1,06	0,02	11,58	1,88
1,50	62,77	1,31	0,12	50,49	8,20
2,50	47,99	1,71	0,23	93,47	15,18
3,50	45,50	1,81	0,26	101,46	16,48
4,50	42,32	1,94	0,29	112,15	18,21

Таблица 13.

Опыт №2, Серия 3.

Контроль

Время, ч	Емкость с КЖ №1				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	79,10	1,03	0,01	5,35	1,00
0,50	76,52	1,06	0,03	11,91	2,23
1,50	56,79	1,43	0,16	65,00	12,14
2,50	46,40	1,75	0,24	96,55	18,04
3,50	42,90	1,89	0,28	108,21	20,22
4,50	39,61	2,05	0,31	119,86	22,39
Время, ч	Емкость с КЖ №3				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	79,12	1,03	0,01	5,30	1,00
0,50	75,54	1,07	0,03	14,42	2,72
1,50	57,70	1,41	0,15	62,40	11,77
2,50	44,65	1,82	0,26	102,30	19,29
3,50	42,91	1,89	0,28	108,17	20,40
4,50	41,27	1,97	0,29	113,89	21,48
Время, ч	Емкость с КЖ №5				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	79,41	1,02	0,01	4,57	1,00
0,50	76,10	1,07	0,03	12,98	2,84
1,50	57,43	1,41	0,15	63,17	13,83
2,50	47,27	1,72	0,23	93,76	20,52
3,50	44,43	1,83	0,26	103,03	22,55
4,50	41,44	1,96	0,29	113,28	24,79
I_o,%	81,16				

Опыт

Время, ч	Емкость с КЖ №2				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	79,37	1,02	0,01	4,67	1,00
0,50	77,83	1,04	0,02	8,57	1,84
1,50	60,80	1,33	0,13	53,67	11,49
2,50	47,05	1,72	0,24	94,46	20,23
3,50	42,84	1,89	0,28	108,41	23,21
4,50	38,93	2,08	0,32	122,37	26,20
Время, ч	Емкость с КЖ №4				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	79,31	1,02	0,01	4,82	1,00
0,50	77,16	1,05	0,02	10,28	2,13
1,50	59,71	1,36	0,13	56,71	11,76
2,50	47,33	1,71	0,23	93,56	19,40
3,50	44,43	1,83	0,26	103,03	21,37
4,50	41,44	1,96	0,29	113,28	23,49
Время, ч	Емкость с КЖ №6				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	78,78	1,03	0,01	6,16	1,00
0,50	76,53	1,06	0,03	11,88	1,93
1,50	58,04	1,40	0,15	61,43	9,97
2,50	47,32	1,72	0,23	93,60	15,19
3,50	44,68	1,82	0,26	102,20	16,58
4,50	40,82	1,99	0,30	115,48	18,74

Таблица 14.

Опыт №3, Серия 3.

Контроль

Время, ч	Емкость с КЖ №1				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	76,64	1,04	0,02	8,90	1,00
0,50	75,26	1,06	0,03	12,46	1,40
1,50	60,69	1,32	0,12	51,64	5,80
2,50	47,28	1,69	0,23	91,64	10,30
3,50	46,81	1,71	0,23	93,15	10,47
4,50	44,29	1,81	0,26	101,45	11,40
Время, ч	Емкость с КЖ №3				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	77,12	1,04	0,02	7,66	1,00
0,50	75,27	1,06	0,03	12,44	1,62
1,50	59,72	1,34	0,13	54,37	7,10
2,50	48,13	1,66	0,22	88,92	11,61
3,50	46,52	1,72	0,24	94,09	12,28
4,50	45,72	1,75	0,24	96,70	12,63
Время, ч	Емкость с КЖ №5				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	78,52	1,02	0,01	4,07	1,00
0,50	74,41	1,08	0,03	14,67	3,61
1,50	57,44	1,39	0,14	60,87	14,97
2,50	47,36	1,69	0,23	91,38	22,47
3,50	47,46	1,69	0,23	91,06	22,39
4,50	44,71	1,79	0,25	100,05	24,60
I_o,%	80,05				

Опыт

Время, ч	Емкость с КЖ №2				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	78,06	1,03	0,01	5,25	1,00
0,50	76,34	1,05	0,02	9,67	1,84
1,50	62,77	1,28	0,11	45,84	8,74
2,50	48,11	1,66	0,22	88,99	16,96
3,50	48,14	1,66	0,22	88,89	16,95
4,50	44,90	1,78	0,25	99,41	18,95
Время, ч	Емкость с КЖ №4				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	77,76	1,03	0,01	6,01	1,00
0,50	75,86	1,06	0,02	10,91	1,81
1,50	62,07	1,29	0,11	47,78	7,94
2,50	47,53	1,68	0,23	90,84	15,10
3,50	46,83	1,71	0,23	93,09	15,48
4,50	45,60	1,76	0,24	97,10	16,14
Время, ч	Емкость с КЖ №6				
	I, %	I_o/I	OD	m, мкг	у. е.
0,00	78,10	1,02	0,01	5,14	1,00
0,50	76,29	1,05	0,02	9,80	1,91
1,50	61,83	1,29	0,11	48,45	9,42
2,50	47,19	1,70	0,23	91,93	17,87
3,50	48,00	1,67	0,22	89,34	17,37
4,50	46,48	1,72	0,24	94,22	18,32

Список сокращений

ОВП – окислительно-восстановительный потенциал

БА – бесконтактная активация или бесконтактно активированный

ЭХА – элеткрохимическая активация или электрохимически активированный

ГСХА – государственная сельскохозяйственная академия

АФК – активные формы кислорода

БДВ – бидистиллированная вода

ДВ – дистиллированная вода

НВЭ – нормальный водородный электрод

ХСЭ – хлорсеребряный электрод

ЭВС – электронно возбужденное состояние

КЖ – культуральная жидкость

ЭМП – электромагнитное поле

ЭМИ – электромагнитное излучение

ЭП - электропроводность