

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ  
СВОЙСТВА ТЕРМОАКТИВИРОВАННЫХ ТИПОВ ВОД  
(БИОТЕСТИРОВАНИЕ С ПОМОЩЬЮ МОЛЛЮСКОВ)**

© 2013 г. О. В. Зайцева\*, К. Л. Данилов\*\*, К. К. Калниньш\*\*\*,  
Н. Л. Лаврик\*\*\*\*, Г. А. Фокин\*\*\*\*\*

\*Зоологический институт РАН

199034 Санкт-Петербург, Университетская наб., 1

E-mail: ovzaitseva@inbox.ru

\*\*Санкт-Петербургский государственный университет низкотемпературных и пищевых технологий

191002 Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9

\*\*\*Институт высокомолекулярных соединений РАН

199004 Санкт-Петербург, В.О., Большой пр., 31

\*\*\*\*Институт химической кинетики и горения СО РАН

630090 Новосибирск, ул. Институтская, 3

\*\*\*\*\*ООО “Газпром трансгаз Санкт-Петербург”

196128 Санкт-Петербург, ул. Варшавская, 3

Поступила в редакцию 14.01.2011 г.

С помощью физико-химических методов и методов биотестирования проведено комплексное исследование свойств двух типов активированных вод: “термоактивированной” – термальной воды, называемой в народной медицине “белый ключ” или “холодный кипяток”; и “талой” воды быстрой заморозки. В качестве тест-объектов для биотестирования использовали моллюсков ампулярий *Potamocorbula asinaria* из лабораторной культуры, применяемой для проведения запатентованных и широко апробированных методов биотестирования качества пресных вод. Определяли в водах содержание кислорода, пероксида водорода и значение рН. Интегральную биологическую активность воды оценивали по методике, основанной на измерении с помощью спектров поглощения скорости окислительно-восстановительного превращения в системе хинон–гидрохинон. Аналогичные исследования проведены с тремя типами контрольных вод: исходной отстоянной водопроводной водой; той же водой, охлажденной до точки замерзания; водой, искусственно обогащенной пероксидом водорода. Показано, что по сравнению с исходной водопроводной водой активированные путем термовоздействия воды обладают повышенной биологической активностью.

*Ключевые слова:* биологически активные воды, биотестирование, поведение, моллюски

DOI: 10.7868/S0321059613010112

Решение проблемы обеспечения населения планеты питьевой водой, гарантирующей выживание, здоровье и развитие наций, признано одной из приоритетных научно-технологических задач современности [6]. В соответствии с доминирующими на сегодня взглядами критерии потребительской ценности воды, в том числе питьевого предназначения, базируются на нормировании содержания минеральных и органических соединений, а также исходной зараженности бактериальными культурами [2]. Эти принципы положены в основу технологических приемов кондиционирования качества питьевых вод массово-

го потребления (доочистка, минерализация, обеззараживание) [38]. В то же время сформировались и активно развиваются воззрения, согласно которым специальные виды обработки воды: электролиз [34, 35, 45], омагничивание [23, 41, 43], сонолиз [1], изотопные смещения [32], механическая дезинтеграция [42], различные виды термического воздействия (нагрев–охлаждение, перекристаллизация) [7, 19, 31, 37] – вызывают в ней изменения, интегральным итогом которых является рост проявлений ее биологической активности. Часть перечисленных технологических приемов активации практически копирует есте-

ственные природные процессы. Речь идет о термовоздействиях: циклическом нагреве—охлаждении водной среды, а также кристаллизации—плавлении ее твердой фазы. В этом смысле природным прототипом первых можно рассматривать термальные, а вторых — талые воды. Издревле эти типы вод использовались и в народной медицине [28]. Однако комплексное строго научное исследование свойств этих вод до сих пор не проводилось. Следует заметить, что даже имеющиеся в настоящее время результаты оценки воздействия вод термоактивированных типов на метаболизм живых организмов выглядят весьма противоречиво. Наряду с данными, безусловно подтверждающими биологическую активность этих вод [19, 37], констатируется и ее полное отсутствие [24]. Неудовлетворительная воспроизводимость результатов, связанная в значительной степени с нестрогой постановкой экспериментов и, в ряде случаев, с неправильным приготовлением проб исследуемых типов вод, — основной аргумент оппонентов, ставящих под сомнение само наличие какого-либо особого эффекта воздействия термоактивированных вод на живые организмы [4].

Тем не менее, в последние годы получены убедительные данные, дающие основание полагать, что в понимании сущности физико-химической картины явления, определяющего в конечном счете потенциальное воздействие подобных типов вод на биологические объекты, наметился существенный прогресс. Показано изменение кислотно-основных свойств, окислительно-восстановительного потенциала [10, 19], каталитической активности [22] в воде, подвергнутой термическому воздействию, а также появление в ней микродоз таких соединений, как пероксид водорода [11] и окись азота [44], широко распространенных у беспозвоночных и позвоночных животных наравне с нейротрансмиттерами и гормонами, регуляторными веществами [5]. Выявлены закономерности, определяющие влияние технологических параметров соответствующих процессов активации воды на количественные изменения перечисленных показателей, включая временной фактор сохранения этой водой приобретенных свойств [8, 21]. На основе этого разработаны методики приготовления исследуемых типов вод и установлены сроки для их использования (интервал времени, в котором сохраняются приобретенные ими физико-химические свойства).

Практическое применение термоактивации для улучшения потребительских качеств питьевых вод невозможно без строгого комплексного параллельного исследования их физико-химиче-

ских параметров и биологических свойств. Эти исследования должны базироваться на уже разработанных методиках приготовления термоактивированных вод и проводиться в сроки, при которых выявленные ранее свойства этих вод сохраняются [8, 21].

В связи с вышесказанным цель настоящей работы — комплексное исследование физико-химических и биологических свойств нескольких типов термоактивированных вод. С целью сведения к минимуму случайной и систематической погрешностей экспериментов авторы базировались на знании современных представлений о технологии производства термоактивированных вод и обращения с ними, а также применяли экспресс-методы тестирования, исключая или сводя к минимуму временной фактор потенциального искажения фиксируемого результата вследствие изменения с течением времени свойств первоначально активированной водной среды. Сформулированные принципы были положены в основу методики проведения серии экспериментов с привлечением в качестве тест-объектов брюхоногих моллюсков *Pomacea canaliculata* из лабораторной культуры, применяемой для проведения запатентованных и широко апробированных методов биотестирования качества пресных вод [12, 17, 25–27].

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

### *Методика приготовления водных проб для исследования*

Для комплексного исследования свойств термоактивированных вод использовали предварительно выдержанную в течение суток воду из коммунально-бытовых систем фиксированного источника питьевого водоснабжения (Санкт-Петербург), отвечающую требованиям СанПиН 2.1.4.1074-01 [39]. Пробы воды отбирали в течение двух осенне-зимних месяцев. Всего было проведено 4 одинаковых серии экспериментов. Было исследовано 5 типов вод. В качестве контрольной воды применяли отстоянную в течение суток исходную водопроводную воду. Эксперименты осуществлялись с использованием “термоактивированной” (термальной), “талой” (быстрой заморозки), а также для сравнения — предварительно “охлажденной” воды, доведенной до равновесия льдом и обогащенной пероксидом водорода. Воды всех типов готовили из контрольной воды и перед исследованием доводили до температуры  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ . С целью проверки качества используемой для экспериментов исходной водопроводной воды в ней предварительно определяли содержание гидрокарбонатов, нитратов, нитритов, ионов кальция,

магния, железа, кальция, а также растворенного кислорода.

Образцы талой воды получали растоплением льда, формировавшегося при частичном (30–50%) замораживании литрового объема воды в сосуде из нержавеющей стали, помещенного в термостат программного замораживателя биоматериалов ЗПБ 00.00.00 ПС с поддержанием фиксированной температуры среды в холодильной камере  $-100^{\circ}\text{C}$  с погрешностью не более чем  $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ .

В экспериментах использовался также остаток незамерзшей воды из сосуда, которая не претерпела фазового перехода (“охлажденная” вода).

Как показали предварительные исследования при выбранном режиме замораживания, химический и изотопный состав таких вод остается практически идентичным исходной водопроводной воде [9, 30]. Это чрезвычайно важно, так как позволяет существенно сократить перечень физико-химических факторов потенциального воздействия, подлежащих рассмотрению при проведении сравнительного анализа биологической активности термоактивированных и контрольных вод.

“Термоактивированную” (термальную) воду готовили путем последовательного нагревания одного литра водопроводной воды до температуры  $95 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  и охлаждения до  $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$  [19]. Подобный характер обработки также не сопровождается заметным изменением химического и изотопного состава обрабатываемой среды. Поскольку считается, что “термоактивированная” (термальная) вода сохраняет свои активные свойства в открытом сосуде не более нескольких часов, то ее подвергали исследованию во всех сериях экспериментов в течение первых трех часов после приготовления.

Для получения воды, обогащенной пероксидом водорода, в исходную отстоянную контрольную водопроводную воду непосредственно перед опытом микродозатором (Biochit – 250 мк) вводили 1 молярный раствор  $\text{H}_2\text{O}_2$  из расчета 39–45 мкг/л.

#### Методики исследования физико-химических свойств термоактивированных вод

С использованием стандартных методик определяли показатели качества исходной водопроводной воды: кальций, магний (ГОСТ 23268.5-91, ГОСТ 23268.5-78), железо  $\text{Fe}^{+2}$ ,  $\text{Fe}^{+3}$  (ГОСТ 4011-72), нитраты (ГОСТ 18826-73), нитриты (ГОСТ 4192-82), растворенный кислород (ГОСТ 27065-86), содержание гидрокарбонатов (ГОСТ Р 52963-2008).

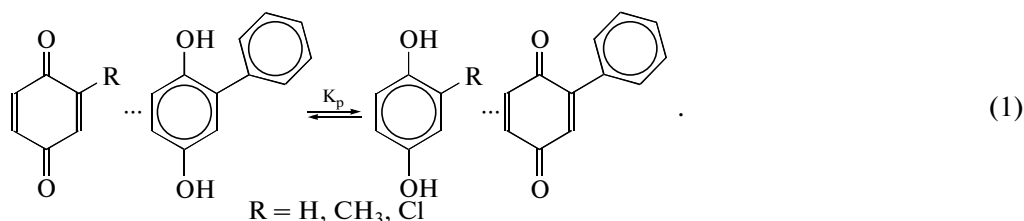
Контроль изменения кислотно-основного характера сред до и после термического воздействия осуществляли профессиональным рН-метром фирмы “Sartorius”. По результатам измерений рассчитывали смещение этого показателя  $\Delta\text{pH}$ :

$$\Delta\text{pH} = \text{pH}_1 - \text{pH}_0,$$

где  $\text{pH}_1$ ,  $\text{pH}_0$  – водородный показатель для активированной и исходной среды соответственно.

Содержание микродоз пероксида водорода определяли фотоколориметрическим методом, сопоставимым по достигаемой разрешающей способности с хемоллюминесцентной методикой [48]. При этом нижний порог регистрации  $\text{H}_2\text{O}_2$  в водных растворах находился на уровне 0.01 мкМ.

Интегральную биологическую активность воды оценивали по методике, основанной на измерении с помощью спектров поглощения скорости окислительно-восстановительного превращения (1) в системе хинон–гидрохинон [22]:



Один из продуктов реакции (1) – фенил-*p*-бензохинон регистрировался по полосе поглощения в видимой области спектра при частоте  $26700\text{ см}^{-1}$ . За количественную меру “биологической ценности” водной среды принималась относительная величина константы скорости  $k$ :

$$k = K/K_0,$$

где  $K$ ,  $K_0$  – константы скорости реакции в активированной и исходной водной среде соответственно.

Правомерность подобной интерпретации на “талой” и “термоактивированной” водах была ранее уже обоснована [8, 21].

Оценку остаточного уровня газосодержания в активированных водах осуществляли путем изме-

рения ионометром — БПК-термооксиметром концентрации растворенного в жидкости кислорода. Возможность искажения результата измерения из-за потенциального насыщения талой воды воздухом при плавлении льда исключали, так как наблюдения за процессом проводились под слоем растительного масла.

Измерение всех вышеперечисленных физико-химических показателей в ходе проведения исследований осуществлялось в 10 повторностях.

*Методика исследования биологической активности термоактивированных вод с помощью биотестирования*

Для биотестирования было использовано 100 особей моллюсков ампулярий *Potamocorbula asinaria* из лабораторной культуры Зоологического института РАН, выведенной специально для проверки качества пресных вод с помощью биотестирования. Поскольку серии опытов проводились с интервалом в несколько суток и исследуемые питьевые воды не вызывали токсических эффектов, то большая часть моллюсков использовалась в опытах неоднократно. В каждой серии опытов было использовано по 45 моллюсков (по 9 экземпляров на пробу). Между опытами моллюсков содержали в стандартных условиях, в 60-литровом аквариуме при температуре 23–25°C в пропущенной через угольный фильтр водопроводной воде, у которой постоянно поддерживались следующие параметры:

gH — 10–12,

kH — 10–12,

pH — 7–7.5,

$\text{NO}_3^+ < 40$  мг/л,

$\text{NO}_2^+ < 0.1$  мг/л,

$\text{PO}_4^+ < 0.5$  мг/л,

$\text{NH}_3/\text{NH}_4 < 0.5$  мг/л.

Ампулярий кормили кормом TetraWaterMix и подкармливали ряской, реже — другими водорослями (роголистником, яванским мхом, валлиснерией или кладофорой). Накануне опытов (вечером) моллюсков не кормили, чтобы при биотестировании дозированная пищевая приманка из TetraWaterMix могла вызвать у них ярко выраженное пищевое поведение.

**Подготовка воды для биотестирования.** Температуру всех проб воды доводили до 24–25°C с помощью специального нагревательного столика. При этом “термоактивированную” (термальную)

воду после приготовления не охлаждали ниже 25°C. Перед биотестированием воду тщательно перемешивали в тест-ванночках стеклянной палочкой.

**Методика проведения биотестирования.** Во всех сериях экспериментов оценку каждой пробы воды проводили двумя способами. В первом варианте тест-организмы (по три экземпляра) помещали в круглые, прозрачные ванночки, содержащие исследуемую воду. Сосуды для биотестирования описаны ранее [26, 27]. В процессе эксперимента (продолжительность 40 мин) по результатам визуального контроля для каждого экземпляра оценивали: локомоторную активность в условных единицах (пройденных квадратах), число произведенных дыхательных актов, а также число всех поведенческих реакций, которые возникали на фоне ориентировочно-поискового поведения и свидетельствовали о кратковременной замене этого поведения защитно-оборонительным. Перечисленные измерения осуществляли после 20-минутной адаптации тест-организмов к тестируемой водной среде.

Во втором варианте, следующем за первым, тест-организмы переносили в тест-ванночки второго типа (“лабиринт”), в одну из камер которых предварительно помещали пищевую приманку (стандартную дозу корма). После 5-минутной адаптации тест-организмы размещали в исходной зоне “лабиринта”. После этого им предоставлялась возможность отыскать корм за заданное время — 10 мин, спустя которое животных, не нашедших корм, вновь помещали в исходную зону “лабиринта” и предоставляли вторую попытку отыскать корм за то же время. Животных, нашедших корм, удаляли из тест-ванночки. При этом подсчитывали число тест-организмов, отыскавших корм с первой попытки, отыскавших со второй и не нашедших корм. По результатам этого биотестирования судили об эффективности пищевого поведения тест-организмов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Проведенные исследования показали, что взятая в качестве контрольной среды отстоянная водопроводная вода во всех сериях экспериментов существенно не отличалась исследуемыми физико-химическими показателями. Некоторые из показателей качества использованной в экспериментах водопроводной воды приведены в табл. 1. Усреднение приведенных в таблице данных осуществлено по результатам всех серий экспериментов.

**Таблица 1.** Результаты определения показателей качества исходной предварительно отстаиваемой в течение суток водопроводной воды (контрольная вода)

Определяемый показатель, мг/л	Результаты измерения
Кальций	$9.5 \pm 2.0$
Магний	$3.8 \pm 0.8$
Железо (+2)	$0.17 \pm 0.03$
Железо (+3)	$0.48 \pm 0.11$
Нитраты	$1.7 \pm 0.4$
Нитриты	$0.046 \pm 0.005$
Растворенный кислород	$9.3 \pm 0.3$
Содержание гидрокарбонатов	$25.0 \pm 0.3$

Результаты измерения физико-химических параметров контрольных и активированных типов вод приведены в табл. 2. Анализ полученных данных свидетельствует о том, что термоактивированные воды в выбранных режимах могут быть как обеднены растворенным кислородом (термальные), так и содержать его в пределах, близких к значениям в исходной водопроводной воде (талая вода, получаемая методом быстрой заморозки). Кислотно-основные характеристики термоактивированных вод на 0.20–0.40 единицы pH смещаются в сторону подщелачивания, а концентрация  $H_2O_2$  в них возрастает до 25–82 мкг/л (0.74–2.41 мкМ).

При отмеченных изменениях относительная константа скорости каталитических (биохимических) реакций повышается в термальной воде в 2.2, в талой – в 2.5 раза по сравнению с исходной

водопроводной водой. Определяющий фактор наблюдаемого эффекта – рост величины водородного показателя, так как специально выполненное тестирование показало, что изменение содержания  $H_2O_2$  в водной среде от 10 до 1500 мкг/л заметно не отражается на значении параметра  $k$  (табл. 2).

Результаты оценки ориентировочно-поискового поведения тест-организмов в тест-ванночках первого типа показали, что во всех сериях экспериментов контрольная (исходная водопроводная) вода по своему качеству была хуже искусственной чистой воды, в которой содержатся моллюски. В исходной отстаиваемой водопроводной воде у животных наблюдалась сниженная локомоторная активность и единичные защитно-оборонительные реакции, выражающиеся в вылезании из тест-ванночек (табл. 3). Кроме того, 13% тест-организмов уже в первые 20 мин пребывания в контрольной воде спрятались в раковину и до конца биотестирования не проявляли никакой локомоторной активности, что свидетельствовало о замене ориентировочно-поискового поведения защитно-оборонительным.

Во всех сериях экспериментов в термоактивированной воде, в воде, обогащенной пероксидом водорода, а также в “охлажденной” воде тест-организмы проявляли повышенную по сравнению с контролем локомоторную активность и возбудимость, которая выражалась в отдельных “всхлопываниях” – резком кратковременном втягивании тела тест-организма в раковину (табл. 3). “Всхлопывания” чаще наблюдались у моллюсков в талой воде и воде, обогащенной пероксидом водорода. Результаты биотестирования показали, что биологическая активность исходной водопроводной воды, активированной всеми четырьмя способами, существенно возросла. По сравнению с ис-

**Таблица 2.** Результаты измерений физико-химических параметров контрольных и активированных типов вод

Исследуемые типы вод	Показатель			
	содержание кислорода, мг/л	pH	содержание $H_2O_2$ , мкг/л	константа ( $k$ )
Контрольная (исходная отстаиваемая водопроводная)	$9.3 \pm 0.3$	$5.9 \pm 0.05$	<0.5	1.0
“Термоактивированная” (термальная)	$5.5 \pm 0.5$	$6.20 \pm 0.05$	$25 \pm 5$	$2.2 \pm 0.2$
“Талая” (быстрой заморозки)	$9.0 \pm 0.2$	$6.30 \pm 0.05$	$35 \pm 5$	$2.5 \pm 0.2$
Контрольная, обогащенная $H_2O_2$	$9.3 \pm 0.3$	$5.9 \pm 0.05$	$42 \pm 3$	1.0
“Охлажденная”	$10.25 \pm 0.19$	$6.09 \pm 0.03$	$65 \pm 2$	$1.8 \pm 0.1$

**Таблица 3.** Результаты оценки эффективности ориентировочно-поискового поведения тест-организмов – биотестирование исследуемых типов вод с помощью моллюсков ( $l_{cp}$  – средняя локомоторная активность тест-организма в условных единицах (пройденных за все время биотестирования квадратах);  $n_l$  – доля тест-организмов, не проявивших двигательную активность, от общего числа;  $D_{cp}$  – среднее число дыхательных актов тест-организма; защитно-оборонительные реакции тест-организмов: 1 – вылезание из тест-ванночки, 2 – “вхлопывание”, 3 – другие;  $K_l$  – показатель изменения средней локомоторной активности тест-организма в исследуемой пробе воды по отношению к контрольной (исходной) воде, рассчитываемый по формуле  $l_{cp}/l_{cpk}$ , где  $l_{cpk}$  – средняя локомоторная активность тест-организма в контрольной воде)

Исследуемые типы вод	$l_{cp}$	$n_l, \%$	$D_{cp}$	Средние значения защитно-оборонительных реакций тест-организма			$K_l$
				1	2	3	
Контрольная (исходная отстоянная водопроводная)	79.6 ± 5.2	13.0 ± 1.5	0.10 ± 0.01	0.1 ± 0.03	0.2 ± 0.01	0	1
“Термоактивированная” (термальная)	135.0 ± 5.1	0	0.20 ± 0.01	0	0.1 ± 0.01	0	1.7
“Талая” (быстрой заморозки)	150.2 ± 6.3	0	0.20 ± 0.01	0	0.4 ± 0.04	0	1.9
Контрольная, обогащенная H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	142.4 ± 10.1	0	0.10 ± 0.00	0	0.4 ± 0.05	0	1.8
“Охлажденная”	114.0 ± 4.4	0	0.30 ± 0.02	0	0.2 ± 0.02	0	1.4

**Таблица 4.** Результаты оценки эффективности пищевого поведения тест-объектов – биотестирование исследуемых типов вод с помощью моллюсков ( $n_1, n_2$  и  $n_3$  – доли тест-организмов, нашедших пищевую приманку за заданное время соответственно с первой, со второй и за обе попытки, от общего числа;  $K_{p1}$  и  $K_{p2}$  – первый и второй показатели эффективности реализации пищевого поведения (изменение числа тест-организмов, нашедших пищевую приманку за заданное время за одну и за две попытки соответственно, по отношению к контрольной (исходной) воде),  $K_{p1}$  рассчитывается по формуле:  $n_1/n_{1k}$ ,  $K_{p2}$  – по формуле:  $n_1 + n_2/n_{1k} + n_{2k}$ , где  $n_{1k}$  и  $n_{2k}$  – соответственно доли тест-организмов, нашедших пищевую приманку за заданное время с первой и со второй попыток, от общего числа в контрольной (исходной) воде)

Исследуемые типы вод	$n_1, \%$	$n_2, \%$	$n_3, \%$	$K_{p1}$	$K_{p2}$
Контрольная (исходная отстоянная водопроводная)	25 ± 3	37 ± 2	38 ± 4	1.0	1.0
“Термоактивированная” (термальная)	62 ± 2	30 ± 1	8 ± 1	2.5	1.5
“Талая” (быстрой заморозки)	50 ± 3	39 ± 2	11 ± 1	2.0	1.4
Контрольная, обогащенная H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	66 ± 5	30 ± 4	4 ± 1	2.6	1.5
“Охлажденная”	55 ± 2	27 ± 3	18 ± 1	2.2	1.3

ходной водопроводной водой показатель средней локомоторной активности тест-организмов  $K_l$  во всех активированных водах увеличивался в 1.4–1.9 раз (табл. 3).

Результаты оценки эффективности пищевого поведения тест-организмов в ванночках второго типа показали, что в исходной отстоянной водопроводной воде она невысока (табл. 4). В ней в среднем ~38% животных не могли найти или не хотели искать корм, и только 25% находили его с

первой попытки. Эффективность пищевого поведения тест-организмов во всех активированных водах возрастала по сравнению с контролем (табл. 4). По показателю  $K_{p1}$ , отражающему изменение числа тест-организмов, нашедших пищевую приманку за заданное время с первой попытки, она возрастала в 2.0–2.6 раз. По показателю  $K_{p2}$ , отражающему изменение числа всех тест-организмов, нашедших пищевую приманку за за-

данное время за две попытки, она возростала в 1.3–1.5 раз.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты проведенного исследования показывают, что все типы термоактивированных вод по сравнению с исходной водопроводной водой (в отношении тест-организмов — брюхоногих моллюсков *Potamocorbula amurensis*) обладают биологической активностью. Биологическая активность вод проявляется уже в течение первых 1.5 ч пребывания в ней животных и выражается в повышении двигательной активности и эффективности реализации ими ориентировочно-поискового и пищевого поведения и в отсутствии защитно-оборонительных реакций, что наблюдается у отдельных особей в исходной водопроводной воде (табл. 3 и 4). О повышении эффективности ориентировочно-поискового и пищевого поведения моллюсков свидетельствует увеличение числа животных, находящихся в “лабиринте” (тест-ванночках второго типа) корм за заданное время, и числа животных, находящихся в нем с первой попытки. Оказалось, что разные типы термоактивированных вод имеют несколько различающиеся показатели биологической активности (табл. 3 и 4). Это может быть связано с разной “мишенью” и механизмом воздействия разных типов вод на организм тест-объектов. Эффективность пищевого и ориентировочно-поискового поведения тест-организма обуславливается рядом факторов. Она, в частности, зависит от работы хеморецепторных структур, локализованных у ампуллорий на головных щупальцах и губах, обработки сенсорной информации на уровне их мозга, доминирующей у них мотивации и локомоторной реализации выбранного поведенческого акта, а также общего физиологического состояния организма тест-объекта [13–16]. Для строгого выявления механизмов действия каждого типа вод и “мишеней” их биологического воздействия, безусловно, требуются дополнительные исследования. Тем не менее следует отметить, что наиболее чувствительны и важны в этом плане у моллюсков хеморецепторные системы (вкусовая и обонятельная), которые инициируют эти формы поведения [13–16]. Именно эти системы страдают у моллюсков от минимального превышения ПДК токсических веществ в исследуемой воде [18]. В целом же констатированный с использованием брюхоногих моллюсков *Potamocorbula amurensis* эффект положительного воздействия термоактивированных типов вод на их двигательную активность и поведе-

ние вполне удовлетворительно коррелирует с результатами, ранее полученными исследователями как для простейших [33], так и для более сложно организованных растительных и животных тест-объектов [19, 37].

Для понимания сути наблюдаемого феномена следует привести следующие данные [33]: статистически достоверно был зафиксирован факт интенсифицирующего воздействия термоактивированных вод на внутриклеточный метаболизм, формально проявляющийся в возрастании пролиферативной активности одноклеточной культуры жгутиконосцев *Crithidia fasciculata* клонального происхождения (штамм cfc) как в талой воде, так и в воде термального происхождения. По сравнению с контролем индекс пролиферативной активности для талой и термальной воды вырос в 1/2 и 2/8 раз соответственно. Возможно, именно интенсификация процессов клеточного метаболизма живого организма при воздействии термоактивированных вод лежит в основе наблюдаемого интегрального эффекта, фиксируемого на ампуллориях.

Представленный авторами статьи экспериментальный материал позволяет вплотную подойти к системному критическому анализу многочисленных гипотез, выдвигаемых для объяснения эффекта приобретения термоактивированными типами вод биологически активных свойств. Прежде всего, речь идет об особой структуре жидкости [7, 20], изотопных смещениях (дейтерий) [32], радикальных изменениях химического состава природных поллютантов, в том числе токсикологического ряда [40], корректировке газонасыщенности [19] и обогащении среды активными формами кислорода [29].

Близость эффектов, фиксируемых в термальной и талой воде в поведенческих реакциях ампуллорий, не оставляет сомнений в непричастности “структурных” особенностей, обычно связываемых с “талой” водой, к приобретению активированными типами вод биоактивных свойств. По аналогичным причинам несостоятельной выглядит и теория “газонасыщенного” состояния, о чем свидетельствуют данные об уровне содержания кислорода в сопоставляемых средах (табл. 2). Вследствие особенностей использованных методических приемов из рассмотрения также следует исключить изотопные эффекты и возможное изменение минерального состава тестируемых сред. По сути, физико-химические различия исходной воды и воды активированных типов (табл. 2) проявляются в изменении кислотно-основных свойств и появлении в последних микродоз активных форм

кислорода ( $H_2O_2$  и, возможно,  $NO$ ). Подтверждением объективности подобного вывода могут быть данные, представленные в ряде опубликованных ранее работ [3, 10, 11, 19, 21, 44]. Абсолютные значения изменения показателя рН активированных сред (0.15–0.4), а также концентрации пероксида водорода в талой воде – 34–85 мкг/л (1–2.5 мкМ), выявленные в этих работах, близки к зафиксированным в настоящем исследовании значениям. Появление заметных микродоз  $H_2O_2$  отмечается даже при нагреве бидистиллированной воды до температуры  $\sim 40^\circ C$ . В этом случае в ней генерируются микроколичества пероксида водорода – до 0.5 мкг/л [3]. По-видимому, именно перечисленные факторы являются определяющими в изменении поведенческой активности ампулярий.

Попробуем обосновать подобную точку зрения. Во-первых, имеются прямые указания на достаточно быстрое изменение рН цитоплазмы клетки при корректировке рН внешней водной среды [46, 47, 49]. Отмечается, что даже ее незначительное подщелачивание (рост рН на 0.2–0.5) сопровождается активизацией обмена веществ. В частности, изменение рН на 0.5 единицы заметно стимулирует клеточное деление. По сути, аналогичный эффект уже отмечался ранее применительно к термальной и талой воде [33]. Во-вторых, активные формы кислорода, такие как  $H_2O_2$  и  $NO$ , являются общепризнанными регуляторными соединениями [5, 36]. При этом особо следует отметить близость измеренного содержания  $H_2O_2$  в термальной и талой водах к его оптимальному значению, оказывающему стимулирующее воздействие на клеточную активность [5].

Выявленный в [33] и в настоящем исследовании масштаб воздействия термоактивированных вод на простейшие и многоклеточные организмы относится к гидробионтам. Применительно к аэробиям и более сложно организованным биообъектам он, безусловно, будет иметь менее выраженные внешние проявления, объективная фиксация которых – предмет дальнейших исследований. Тем не менее, накопленная экспериментальная информация, на взгляд авторов настоящего исследования, уже позволяет рассматривать термоактивацию в качестве потенциально перспективного метода улучшения потребительских свойств воды питьевого назначения.

## ВЫВОДЫ

Все четыре типа активированных вод – “термоактивированная” (термальная), “талая”, “охлажденная” и “обогащенная пероксидом водорода” не проявляют выраженного токсического эффекта

в отношении тест-объектов (брюхоногих моллюсков ампулярий) в период их воздействия (1.5 ч). В то же время исходная водопроводная вода (контрольная) вызывает небольшой токсический эффект, выражающийся в появлении у 13% тест-организмов защитно-оборонительных реакций (вылезание из тест-ванночки и полное втягивание тела в раковину с прекращением локомоторной активности).

Во всех четырех типах активированных вод повышается эффективность ориентировочно-поискового и пищевого поведения тест-объектов в течение всего времени пребывания. Установлено также, что в активированных водах, кроме воды обогащенной пероксидом водорода, в 1.8–2.5 раза повышается относительная константа скорости каталитических (биохимических) реакций.

Предполагается, что биологическая активность термоактивированных вод обусловлена, главным образом, повышением рН и в некоторой степени – обогащением среды пероксидом водорода.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Акопян Б.В., Ершов Ю.А.* Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами / Под ред. Шукина С.И. М.: Изд-во МГТУ, 2005. 224 с.
2. *Ахманов М.* Вода, которую мы пьем. М.: Эксмо, 2006. 192 с.
3. *Брусков В.И., Масалимов Ж.К., Черников А.В.* Образование активных форм кислорода в воде под действием тепла // ДАН. 2002. Т. 384. № 6. С. 821–824.
4. *Волькенштейн М.В.* Трактат о лженауке // Химия и жизнь. 1975. № 10. С. 72–80.
5. *Гамалей И.А., Клюбин И.В.* Перекись водорода как сигнальная молекула // Цитология. 1996. Т. 38. № 12. С. 1233–1247.
6. *Гипов А.В.* О проекте государственной программы “Чистая вода” // Водоснабжение и канализация. 2010. № 3–4. С. 16–22.
7. *Гуман А.К.* Особенности талой воды // Структура и роль воды в живом организме. Сб. 1. Л.: Изд-во ЛГУ, 1966. С. 179–189.
8. *Данилов К.Л., Акулов Л.А., Калниньш К.К. и др.* Влияние динамики замораживания водной среды на каталитическую активность талой воды // Вестн. Междунар. акад. холода. 2010. Вып. 2. С. 34–37.
9. *Данилов К.Л., Лаврик Н.Л., Акулов Л.А.* Очистка воды от микропримесей ионов металлов методом перекристаллизации // Низкотемпературные и пищевые технологии в XXI веке. Сб. СПбГУНИПТ. 2007. С. 187–192.



10. *Джурабаев М.* Изменение свойств природной воды при ее активации // Аграрная наука. 2004. № 5. С. 6.
11. *Домрачев Г.А., Родыгин Ю.Л., Селивановский Д.А., Стунжас П.А.* Об одном из механизмов генерации пероксида водорода в океане // Химия морей и океанов. М.: Наука, 1995. С. 169–177.
12. *Зайцева О.В.* Экспресс-способ биотестирования пресных вод “Поведенческие реакции моллюсков” (“ПРМ-ТЕСТ”) // БИ. 1997. № 17. Патент № 2082167. МПК: G01N33/18.
13. *Зайцева О.В.* Структурная организация сенсорных органов и иннервация кожных покровов моллюска *Rotacea paludosa* (Prosobranchia) // Журн. эволюционной биохимии и физиологии. 1998. Т. 34. № 3. С. 352–363.
14. *Зайцева О.В.* Принципы структурной организации хемосенсорных систем пресноводных брюхоногих моллюсков // Морфология. 1998. Т. 114. № 5. С. 7–18.
15. *Зайцева О.В.* Церебральные отделы хемосенсорных систем улитки, структурные основы межсенсорной интеграции // Журн. эволюционной биохимии и физиологии. 2000. Т. 36. № 2. С. 112–118.
16. *Зайцева О.В.* Доминантные структурно-функциональные адаптации дистантных хемосенсорных систем в филогенезе брюхоногих моллюсков // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2000. Т. 86. № 8. С. 995–1006.
17. *Зайцева О.В., Виноградов А.Е.* Биологический способ определения степени общей токсичности и основных токсикантов водной среды (варианты) // БИ. 1998. № 12. Патент № 2110067. МПК: G01N33/18.
18. *Зайцева О.В., Ковалев В.В., Шувалова Н.Е.* Исследование специфики нарушений процессов хеморецепции в поисковых поведенческих реакциях модельных объектов при действии различных доз основных классов токсикантов // Сенсорные системы. 1993. Т. 7. № 1. С. 78–82.
19. *Зелепухин В.Д., Зелепухин И.Д.* Ключ к “живой” воде. Алма-Ата: Кайнар, 1987. 176 с.
20. *Зелепухин В.Д., Зелепухин И.Д., Красноголовец В.В.* Механизм структурирования воды дегазированием. Киев: ИФ АН УССР, 1989. 56 с.
21. *Калниньш К.К., Данилов К.Л., Быков О.Д., Фокин Г.А.* Термохимические превращения гидрокарбонатных ионов в водном растворе // Журн. прикл. химии. 2010. Т. 38. Вып. 8. С. 121–128.
22. *Калниньш К.К., Павлова Л.П.* Вода — родник жизни. СПб.: СПГУТД, 2005. 292 с.
23. *Классен В.И.* Омагничивание водных систем. М.: Химия, 1982. 296 с.
24. *Кузнецов П.А.* О сроках черенкования и стимулировании укоренения зеленых черенков облепихи // Биология, химия, интродукция и селекция облепихи. Горький: ГСХИ, 1986. С. 147–151.
25. *Куриленко В.В., Былина Т.С., Зайцева О.В. и др.* Экогеологическая оценка состояния водных экосистем г. Санкт-Петербурга с использованием методов биоиндикации и биотестирования // Теоретические и методические вопросы экологической геологии. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2006. С. 62–100.
26. *Куриленко В.В., Зайцева О.В.* Экспресс-оценка токсичности вод на основе биотестирования (на примере поверхностных водоемов Санкт-Петербурга) // Вод. ресурсы. 2005. Т. 32. № 4. С. 425–434.
27. *Куриленко В.В., Зайцева О.В., Новикова Е.Ф. и др.* Основы биогеохимии, биоиндикации и биотестирования водных экосистем. Учебное пособие. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2004. 444 с.
28. *Лавренова Г.В., Соловьева В.А., Лавренов В.К. и др.* Большая энциклопедия народной медицины. М.: ОЛМА Медиа Групп, 2009. 1168 с.
29. *Лаврик Н.Л.* Талая вода с позиции физической химии // Химия в интересах устойчивого развития. 2008. Т. 16. Вып. 3. С. 313–317.
30. *Лаврик Н.Л., Борискин В.В., Данилов К.Л., Бреднев В.А.* Влияние скорости и доли замораживания воды на сепарацию изотопов водорода и кислорода // Биофизика. 2009. Т. 54. Вып. 5. С. 831–834.
31. *Летников Ф.А., Кащеева Т.В., Минцис А.Ш.* Активированная вода. Новосибирск: Наука, 1976. 135 с.
32. *Лобышев В.И., Калиниченко Л.П.* Изотопные эффекты D<sub>2</sub>O в биологических системах. М.: Наука, 1978. 216 с.
33. *Мальшева М.Н., Данилов К.Л., Калниньш К.К. и др.* Влияние термокондиционированных типов вод на пролиферативную активность жгутиконосцев *Crithidia Fasciculata* // Вода: технология и экология. 2010. № 3. С. 20–30.
34. *Мирошников А.И.* Стимуляция и ингибирование роста клеток *Escherichia coli* при выращивании в католите и анолите питательной среды // Биофизика. 2002. Т. 47. Вып. 2. С. 304–308.
35. *Петрушанко И.Ю., Лобышев В.И.* Неравновесное состояние электрохимически активированной воды и ее биологическая активность // Биофизика. 2001. Т. 46. Вып. 3. С. 389–401.
36. *Проскураков С.Я., Конопляникова А.Г., Иванников А.И., Скворцов В.Г.* Биология окиси азота // Успехи современной биологии. 1999. Т. 119. № 4. С. 380–395.
37. *Родимов Б.Н.* Снеговая вода — стимулятор роста и продуктивности животных и растений // Сельское хозяйство Сибири. 1961. № 7. С. 66–69.
38. *Рябчиков Б.Е.* Современные методы подготовки воды для промышленного и бытового использования. М.: ДеЛи принт, 2004. 301 с.
39. СанПиН 2.1.4.1074-01. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. Санитарно-эпидемиологические прави-

- ла и нормативы. М.: Федеральный центр гос-санэпидемнадзора Минздрава России, 2002. 103 с.
40. *Скоробогатов Г.А., Калинин А.И.* Осторожно! Водопроводная вода! СПб.: Изд-во СПбГУ, 2003. 156 с.
41. *Сокольский Ю.М.* Омагниченная вода: правда и вымысел. Л.: Химия, 1990. 144 с.
42. *Хинт И.И.* УДА-технология: проблемы и перспективы. Таллин: Валгус, 1981. 36 с.
43. *Холодов Ю.А., Козлов А.Н., Горбач А.М.* Магнитные поля биологических объектов. М.: Наука, 1987. 145 с.
44. *Черников А.В., Брусков В.И.* Фиксация атмосферного азота под действием тепла и света в воде с образованием оксидов азота // ДАН. 2005. Т. 400. № 2. С. 279–282.
45. *Шаманаева Е.А., Борисенко А.А., Борисенко Л.А., Судакова Н.В.* Электрохимическая активация как способ безреагентного регулирования свойств жидких пищевых сред. Ставрополь: СевКавГТУ, 2007. 144 с.
46. *Aksyonov S.I., Svintitskikh V.A.* On mechanisms of biological action of boiled and thawed water // *Studia Biophysica*. 1990. V. 136. № 2–3. P. 199–202.
47. *Alberts B., Bray D., Lewis J. et al.* *Molecular Biology of the cell*. N.Y.; London: Garland Publishing Inc., 1983. 1146 p.
48. *Dukes E.K., Hyder M.L.* // Determination of peroxide by automatic colorimetry // *Anal. Chem.* 1964. V. 36. P. 1689.
49. *Hochachka P.W., Somero G.N.* *Biochemical adaptation*. Princeton: Princeton University Press, 1984. 538 p.