

AKTYVUOTOJO VANDENS VARTOJIMO *IN VITRO* GALIMYBIŲ ĮVERTINIMAS

Jūratė Klimaitė¹, Romualdas Maruška¹, Vytuolis Žilaitis¹, Alfredas Motiejūnas²

¹Lietuvos veterinarijos akademija, Akušerijos-ginekologijos katedra, Tilžės g. 18, LT-3022 Kaunas; tel. 36 34 02; el. p.: akuserija@lva.lt

²Lietuvos veterinarijos akademija, Vidaus ligų katedra, Tilžės g.18, LT-3022 Kaunas

Santrauka. Įvertinta, kaip laboratorijos sąlygomis galima pasigaminti aktyvuotojo vandens. Nustatyta, kad elektrolizės metu susidaręs rūgštusis ir šarminis vanduo per 2 savaites praktiškai nepakinta. Mikroorganizmus kultivuojant terpėse su rūgščiuoju ir šarminiu vandeniu aiškintasi, ar aktyvuotasis vanduo turi įtakos įvairių mikroorganizmų augimui. Rūgštusis vanduo 24 valandas stabdė visų mikroorganizmų augimą, o šarminio vandens ryškesnio poveikio nepastebėta. Iš distiliuoto vandens paruoštas analogiško pH tirpalas taip pat neturėjo įtakos mikroorganizmų augimui. Aktyvuotasis vanduo (rūgščioji frakcija) pasižymi biologiniu poveikiu (bakteriostatinu) mikroorganizmams.

Raktažodžiai: aktyvuotasis vanduo, rūgštusis vanduo, šarminis vanduo, mikroorganizmai.

THE ELECTRIC WATER USE *IN VITRO*

Summary. We evaluated how to make electric water at the laboratory. We mixed acidic and alkaline water with the medium of cultivated microbes and observed how it influenced the microbes development. The acid and alkali water remained much the same for 2 weeks. The acid water stopped all microbes development. The alkali water didn't influence microbes noticeably. The distil water (pH parallel) didn't change the microbes development. The electricity water (acid fraction) has a biological effect.

Keywords: activity water, acidic and alkaline water, microbes.

Įvadas. Tiek periodinėje, tiek mokslo literatūroje yra duomenų apie aktyvuotojo (Daukšas ir kt. 1997) vandens biologinį poveikį organizmams (Fesenko et al., 2002; Бахир, 1992; Бахир, 1999, Прилуцкий, 1997). Lietuvoje populiariausi vandens aktyvatoriai ir siūloma tokį vandenį vartoti medicinos ir botanikos reikmėms (Šibilskis, <http://burbuliukas.w3.lt/lt/knyga/lt-knyga.htm>). Kadangi išsamios informacijos apie aktyvuotąjį vandenį nepavyko rasti, tai pamėginta išsiaiškinti, kaip jį pasigaminti, ir patikrinti, ar jis veikia saprofitinius ir patogeninius mikroorganizmus.

Elektrolito tirpalu leidžiant elektros srovę, prie katodo redukuojamos oksiduotos elektrocheminės sistemos, turinčios didžiausią elektrodo potencialą, o prie anodo oksiduojamos elektrocheminės sistemos, turinčios mažiausią elektrodo potencialą. Vanduo – silpnas elektrolitas. Nuolatinė elektros srovė, tekėdama vandeniu, skaido jį ir oksiduoja bei redukuoja priemaišas. Netikslu šį procesą vadinti vandens elektrolize. Energiškai patogiau vandens molekulės ne tiesiog skaidyti į jonus, bet jas oksiduoti ir redukuoti. Prie katodo išsiskiria vandenilio, bet ne dėl vandenilio jonų, o dėl vandens redukcijos: $2\text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2 + 2\text{OH}^-$. Tuo metu prie anodo išsiskiria deguonies, nes vyksta vandens oksidacija: $2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^-$. Bendroji lygtis būtų: $6\text{H}_2\text{O} + 4\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2 + 4\text{OH}^- + \text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^-$. Jeigu indą tarp elektrodų perskirtume laidžia membrana, tai susidarę vandenilio (oksonio) ir hidrokso jonai negalėtų susijungti ir rekombinuotis. Prie katodo kauptųsi vanduo su hidrokso jonų pertekliumi (šarminis vanduo), o prie anodo – vanduo su vandenilio (oksonio) jonų pertekliumi (rūgštusis vanduo). Gali būti, kad prie katodo vyksta ir energiška vandeniui artimų elektrocheminių sistemų

redukcija. Netirpios redukuotos medžiagos nusėda, ir katodinis vanduo apšvalo nuo dalies ištirpusių elektrolitų. Veikiamos elektrinio lauko, susidaro metastabilios vandens klasterių ir priemaišų struktūros, galinčios veikti kaip metabolizmo katalizatoriai (Colegio et al., 2002; Johnson et al., 2001; Niwa et al., 2002). Taip gaunamas elektrolizuotas (aktyvuotasis) vanduo.

Elektrolizės eiga ir susidariusių produktų savybės priklauso nuo tam tikrų sąlygų: srovės tankio, vandens sudėties, elektrodų kilmės. Kadangi teoriškai vandens elektrolizės būdas pakankamai paprastas, tai prieinamomis priemonėmis įmanoma modeliuoti vandens elektrolizės aparatus, jų darbą palyginti su komercinių aparatų darbu. Literatūroje nėra pakankamai informacijos, kaip aktyvuotąjį vandenį laikyti, o informacija apie tokio vandens vartojimą veterinarinės praktikos reikmėms – tik rekomendacinio pobūdžio (Паничева, 1998).

Darbo tikslas – palyginti aktyvuotojo ir analogiško pH intaktinio vandens poveikį saprofitiniams ir sąlygiškai patogeniniams mikroorganizmams *in vitro*, patikslinti aktyvuotojo vandens gamybos bei laikymo sąlygas, pagrįstai įvertinti, ar toks vanduo tinkamas veterinarinės akušerijos reikmėms.

Tyrimų metodika. Darbas atliktas LVA Akušerijos-ginekologijos katedroje ir Gyvulių reprodukcijos laboratorijoje. Aktyvuotojo vandens gamybos ir laikymo sąlygoms išsiaiškinti daryta vandentiekio ir distiliuoto vandens elektrolizė. Vandens vertinimo kriterijumi pasirinktas vandenilio jonų koncentracijos antilogaritmas – pH. Vandens elektrolizė daryta eksperimentiniu įrenginiu. Įtampa – 36 V. Elektrodų skersmuo ir medžiagos tokie pat kaip buitinių PTV tipo vandens aktyvatorių: anodas – anglinis strypas, o katodas –

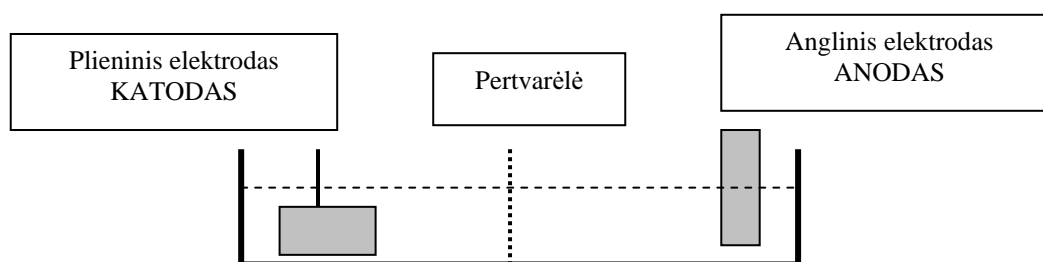
nerūdijančio plieno plokštelė. Kontrolinėms terpėms vanduo ruoštas serijiniu PTV tipo vandens elektrolizės aparatu. Vandenilio jonų koncentracija 0,1 vieneto tikslumu nustatyta aparatu „pH-Meter 526“. Aktyvuotasis vanduo laikytas kambario temperatūroje ir buitiniame šaldytuve 4–6 °C temperatūroje. pH matuotas 2 kartus kas 7 dienos.

Bakteriostatiniam ir bakteriocidiniam poveikiui įvertinti į įvairias terpes – avių kraujo (*Sheep blood agar base*, "Oxoid", Anglija), Makonkio (*MacConkey agar*, "Oxoid", Anglija), Edvardso (*Edwards medium modified*, "Oxoid", Anglija), Sabūro (*Sabouraud dextrose agar*, "Oxoid", Anglija), OGYE (*O.G.Y.E. agar*, "Liofilchem", Italija) agarus įmaišyta aktyvuoto vandens. Vieni mėginiai paruošti taip, kad užsikrėtę saprofitine mikroflora, 1 val. laikyti kambario temperatūroje, į kitus,

kad užsikrėtę sąlygiškai patogenine mikroflora, įsėta endometritu sergančių karvių sekreto. Tiriamieji mėginiai 24–48 val. inkubuoti 37 °C temperatūroje. Kas 24 val. vertintas išaugusių kolonijų dydis, spalva. Vartotas tik ką elektrolizuotas ir 14 parų laikytas aktyvuotasis vanduo. Išaugusios kolonijos dažytos Gramo būdu, tikrintos 3 % KOH ir 3 % vandenilio peroksido tirpalais.

Kontroliniams mėginiams naudotas vanduo, kurio vandenilio jonų koncentracija artima aktyvuoto vandens vandenilio jonų koncentracijai. Reikiamas pH pakoreguotas 0,1 M HCl arba 0,1 M NaOH.

Tyrimo rezultatai. Eksperimentinį elektrolizerį sudarė sandari plastikinė dėžutė su dviem elektrodais – angliniu bei nerūdijančio plieno ir kartonine pertvarėle tarp jų. Elektrodai per srovės lyginimo tiltelį sujungti su žeminimo transformatoriumi (1 pav.).



1 pav. Eksperimentinis elektrozės aparatas

Teoriškai aktyvuoto vandens vandenilio jonų koncentracija priklauso nuo elektrolizuojamame vandenyje esančių tirpiųjų druskų jonų koncentracijos, srovės tankio ir iš dalies nuo elektrolizės trukmės. Palyginta vienodą laiką tarpą buitiniu elektrolizės aparatu PTV ir analogišku eksperimentiniu įrenginiu elektrolizuoto vandens vandenilio jonų koncentracija.

Kaip matyti iš 1 lentelės duomenų, elektrolizuotame tiek distiliuotame, tiek vandentiekio vandenyje prie katodo susidarė šarminė terpė, o prie anodo – rūgštinė. Vandenilio jonų koncentracija priklausė nuo elektrolizės

trukmės. Eksperimentiniu įrenginiu elektrolizuoto vandentiekio vandens anodinė terpė buvo 40,47 % rūgštesnė ($p < 0,1$) negu elektrolizuoto distiliuoto vandens anodinė terpė. Stacionariu įrenginiu elektrolizuoto vandentiekio vandens anodinė terpė taip pat buvo rūgštesnė, bet labai nedaug (2,7%; $P > 0,1$) skyrėsi nuo elektrolizuoto distiliuoto vandens anodinės terpės. Tiek eksperimentiniu, tiek stacionariu įrenginiu elektrolizuoto vandentiekio vandens katodinė terpė buvo mažiau šarminė (atitinkamai 5,6%; $P < 0,1$ ir 6,32%; $P < 0,1$) negu elektrolizuoto distiliuoto vandens katodinė terpė.

1 lentelė. Vandenilio jonų koncentracija skirtingais prietaisais elektrolizuotame vandentiekio ir distiliuotame vandenyje

Elektrolizės trukmė, min.	Eksperimentinis įrenginys				PTV aparatas			
	vandentiekio vanduo		distiliuotas vanduo		vandentiekio vanduo		distiliuotas vanduo	
	anodinis	katodinis	anodinis	katodinis	anodinis	katodinis	anodinis	katodinis
15	3,5	7,9	5,7	8,1	4,1	7,8	4,5	8,2
30	2,5	8,4	4,2	8,9	3,6	8,2	3,7	9,8

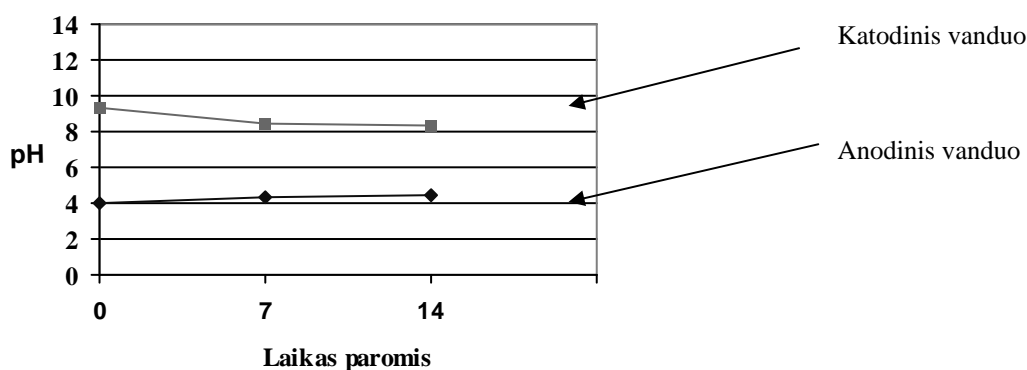
Laikymo sąlygoms išsiaiškinti elektrolizuotas vanduo laikytas vienoduose stikliniuose induose skirtingomis sąlygomis. Gauti bandymo duomenys pateikti 2 lentelėje.

Kaip matyti iš 2 lentelės duomenų, anodinio vandens, laikyto kambario temperatūroje, rūgštingumas per 14 parų sumažėjo 12,5%, o katodinio vandens šarminumas – 3,7%. Šaldytuve laikyto vandens rūgštingumas ir šarminumas sumažėjo atitinkamai 3,8% ir 18,6%. Kambario temperatūroje laikyto rūgščiojo vandens vandenilio jonų

koncentracija padidėjo 8,7% ($P > 0,5$) palyginti su šaldytuve laikytu vandeniu. Tuo tarpu šaldytuve laikyto šarminio vandens pH 14,9% ($P > 0,5$) sumažėjo palyginti su kambario temperatūroje laikytu šarminiu vandeniu. Kaip kito elektrolizuoto vandens vandenilio jonų koncentracija, matyti iš 2 pav. pateikto grafiko. Elektrolizuoto vandens vandenilio jonų koncentracija ilgainiui artėja prie 7. Katodinis vanduo keičiasi 8,4 % ($P < 0,1$) greičiau negu anodinis vanduo.

2 lentelė. Ilgainiui atsirandantys aktyvuotojo vandens pH pokyčiai

Laikymo trukmė, paromis	pH			
	Kambario temperatūra		Šaldytuvas (4–6 °C)	
	anodinis vanduo	katodinis vanduo	anodinis vanduo	katodinis vanduo
0	5,6	8,4	2,5	10,2
7	6,1	8,2	2,6	8,7
14	6,4	8,1	2,6	8,6



2 pav. Vandens vandenilio jonų koncentracijos pokyčiai

Kaip biologiškai veikia aktyvuotasis vanduo, matyti iš jo poveikio įvairioms mikroorganizmų kultūroms, kultivuojamoms terpėse su aktyvuotuoju vandeniu (3 lentelė).

Po 24 val. kultivavimo terpėje su anodiniu vandeniu aptikta pavienių saprofitinių bakterijų kolonijų, pavienių sąlygiškai patogeninių enterobakterijų ir stafilokokų. Tokioje terpėje neaugo nei streptokokai, nei pelėšiai. Terpėje su katodiniu vandeniu intensyviai augo tiek saprofitiniai, tiek patogeniniai mikroorganizmai:

stafilokokai, enterobakterijos, streptokokai, o pelėsių aptiktos tik pavienės kolonijos. Kontrolinėje terpėje su intaktiniu, bet panašios vandenilio jonų koncentracijos vandeniu praktiškai vienodai sėkmingai augo tiek patogeninė, tiek saprofitinė mikroflora. Pastebimų skirtumų tarp terpių su parūgštintu ir su pašarmintu vandeniu nenustatyta. Po 48 val. kultivavimo tiek terpėje su anodiniu vandeniu, tiek terpėje su katodiniu vandeniu bakterijų kolonijų augo panašiai. Po 48 val. kultivavimo terpėje su katodiniu vandeniu intensyviai augo pelėšiai.

3 lentelė. Mikroorganizmų augimas terpėse su aktyvuotuoju vandeniu

Mikroorganizmų kultūros	Šviežias aktyvuotasis vanduo				Kontrolė				14 parų laikytas aktyvuotasis vanduo
	pH				pH				pH
	3,75		9,86		3,5		8,9		2,6
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h
Saprofitinė mikroflora	+	++	++	+	+++	++	+++	++	++
Pelėšiai		++	+	+++	+	++	+	+	
Sąlygiškai patogeninė mikroflora:									
stafilokokai	+	++	++	++	++	++	+	++	+
enterobakterijos	+	+	++	++	++	++	++	+	+
streptokokai	+	+	++	++	++	++	+	++	+

PASTABOS: + – pavienės kolonijos; ++ – kolonijos užima 2/3 lėkštelės paviršiaus; +++ – visas lėkštelės paviršius užklotas kolonijomis.

Rezultatų aptarimas. Laboratorijoje turimais įrenginiais galima elektrolizuoti vandenį. Vandenilio jonų koncentracija vandenyje, elektrolizuotame eksperimentiniu įrenginiu, buvo tokia pat kaip ir vandenyje, elektrolizuotame serijiniu PTV tipo aparatu. Teoriškai neįmanoma gryno vandens elektrolizė. Tačiau praktiškai po vienodos trukmės elektrolizės vandenilio jonų koncentraciją distiliuotame vandenyje labai mažai skyrėsi nuo vandenilio jonų koncentracijos vandentiekio vandenyje. Anodinis vandentiekio vanduo buvo 21,8 % rūgštesnis už anodinį distiliuotą vandenį ($p < 0,1$), o katodinis vandentiekio vanduo buvo 11,23 % silpniau šarminis negu katodinis distiliuotas vanduo ($p > 0,5$). Leidžiant elektros srovę distiliuotu vandeniu, jo vandenilio jonų koncentracija kinta (tai patvirtina koncentracijos antilogaritmo – pH – pokyčiai) dėl jame esančių tirpių priemaišų, galinčių pernešti elektros krūvį. Katodinis vandentiekio vanduo, matyt, dėl jame gausesnių redukuojamų elektrocheminių priemaišų, yra silpniau šarminis. Medicinos ir biologijos praktikoje dėl įvairių specifinių prižasčių (osmosinio slėgio, neigiamo tam tikrų jonų poveikio, pirogeniškumo) dažniausiai vartojamas distiliuotas vanduo. Galimybė elektrolizuoti distiliuotą vandenį leidžia aktyvuotąjį vandenį plačiau taikyti biomedicinos reikmėms. 14 parų laikyto elektrolizuoto vandens pH pokyčiai labai nedideli. Kaip matyti iš 2 paveikslų, ilgainiui anodinio vandens rūgštingumas ir katodinio vandens šarminumas mažėja, t.y. aktyvuotojo vandens pH ilgainiui artėja prie 7. Nustatyti vandenilio jonų koncentracijos pokyčiai nėra statistiškai patikimi. Galima teigti, kad aktyvuotasis vanduo linkęs rekombinuotis.

Mikroorganizmų augimo intensyvumas priklauso nuo terpės, kurioje jie kultivuojami. Terpėje su šviežiu anodiniu vandeniu mikroorganizmai auga prasčiau negu terpėje su šviežiu katodiniu vandeniu. Anodinis vanduo lėtina ne tik saprofitinių, bet ir sąlygiškai patogeninių mikroorganizmų ir pelėsių augimą. 14 parų laikytas aktyvuotasis rūgščios frakcijos vanduo veikia bakteriostatiškai, panašiai kaip ir tik ką elektrolizuotas vanduo. Vadinas, aktyvuotasis vanduo gali turėti įtakos biologinėms sistemoms. Aktyvuotasis anodinis vanduo slopina iš endometritu sergančių karvių gleivių išskirtą mikroflorą. Ar anodinis vanduo intensyviai veikia ir kaip

bakteriostatikas, vienareikšmiškai atsakyti sudėtinga. Po 48 val. trukusio kultivavimo visuose mėginiuose mikroorganizmai praktiškai augo vienodai. Katodinis aktyvuotasis ir intaktinis vanduo pastebimos įtakos mikroorganizmų augimui neturėjo.

Išvados.

1. Laboratorijos sąlygomis galima pasigaminti aktyvuotojo vandens.
2. Elektrolizuoti galima ir distiliuotą vandenį.
3. Aktyvusis vanduo dvi savaites būna veiksmingas.
4. Rūgščioji aktyvuotojo vandens frakcija pasižymi bakteriostatinu poveikiu.
5. Rūgščioji aktyvuotojo vandens frakcija slopina endometritu sergančių karvių gleivių mikroflorą.

Literatūra

1. Colegio O.R., Van Itallie C.M., McCrea H.J. et al. Claudins create charge-selective channels in the paracellular pathway between epithelial cells. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* USA, 2002, Jul. 283(1).P. 29–30.
2. Daukšas R., Barkauskas J., Daukšas V. ir kt. Chemijos terminų aiškinamasis žodynas. Vilnius, 1997. P. 547.
3. Fesenko E. E., Popov V. I., Novikov V. V., Khutsian S. S. Water structure formation by weak magnetic fields and xenon. *Electron microscopic analysis. Russia. Biofizika.* 2002 May-Jun. N. 47(3) P. 389–94.
4. Johnson D. B., Rolfe S., Hallberg K. B., Iversen E. Isolation and phylogenetic characterization of acidophilic microorganisms indigenous to acidic drainage waters at an abandoned Norwegian copper mine. *Environ Microbiol.* 2001, Oct. N. 3(10). P. 630-637.
5. Niwa M., Morikawa M., Yagi K., Higashi N. Interaction between polylysine monolayer and DNA at the air-water interface. *Int. J. Biol. Macromol. Japan*, 2002, Mar. 8. N. 30(1). P.47–54.
6. Šibilskis P. Aktyvusis ir sidabringas vanduo. <http://burbuliukas.w3.lt/lt/knyga/lt-knyga.htm>.
7. Бахир В. М. Электрохимическая активация. М.ВНИИИМТ, 1992. 2 ч.с. 657.
8. Прилуцкий В. И., Бахир В. М. Электрохимически активированная вода - аномальные свойства, механизм биологического действия. М.ВНИИИМТ, 1997. С. 228.
9. Паничева С. А. Новые технологии дезинфекции и стерилизации сложных изделий медицинского назначения. М.ВНИИИМТ, 1998. С.122.
10. Электрохимическая активация, история, состояние, перспективы. Под ред. В. М. Бахира. М.ВНИИИМТ, 1999. С. 256.