

На правах рукописи



Успенская Елена Валерьевна

**Изучение структуры воды на супрамолекулярном уровне для
разработки новых методов стандартизации и контроля качества
минеральных вод и жидких лекарственных форм**

15 00.02. – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук**

Москва

2007

Работа выполнена на кафедре фармацевтической и токсикологической химии
медицинского факультета ГОУ ВПО «Российский университет дружбы народов»

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор Сыроешкин Антон Владимирович

Официальные оппоненты:

доктор фармацевтических наук, профессор, академик РАО

Попков Владимир Андреевич

доктор химических наук Нилов Александр Петрович

Ведущая организация:

Московский Государственный медико-стоматологический университет

Защита диссертации состоится «25» мая 2007 г. в 14⁰⁰
на заседании диссертационного совета Д 212 203 13
при ГОУ ВПО «Российский университет дружбы народов»
по адресу 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, д 8

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке
Российского университета дружбы народов
по адресу 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д 6

Автореферат разослан «20» апреля 2007 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор биологических наук, профессор

Лукашова Е В



ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Структура воды и водных растворов — предмет многолетних исследований. Созданы различные теории и разработаны структурные модели воды: квазикристаллические теории жидкого состояния, подход Бернала, структурные дефекты Самойлова, мерцающие кластеры Франка и Вена, гидраты Полинга (Chirpman D M, 2005, Finney J H, 2004, Зацепина Г Л, 1998, Colson S D et al, 1994, Kuslik P G et al, 1994, Полинг Л, 1976). Уникальная структура молекулы воды как «симметричного двойного донора и акцептора протонов» определяет способность молекул H_2O к образованию ассоциатов линейных размеров 10^3 нм и временами релаксации 10^{-10} - 10^{-9} с (Saykally R P, 1993, Liu K, 1996).

Новые исследовательские подходы к изучению структуры воды (Фесенко Е Е и др, 1999, Смирнов А Н и др, 2004) позволили наблюдать необычные свойства воды, которые свидетельствуют о возможности существования в воде гигантских (до 0,1 мкм) упорядоченных структур — супрамолекулярных комплексов, названные академиком Гончаруком В В «нанитскими гетерофазными кластерами воды» (Гончарук В В и др, 2005, 2006).

Тенденция увеличения спроса и предложения лекарственных средств на фармацевтическом рынке способствует развитию фундаментальных научных исследований по внедрению в фармацевтику современных методов стандартизации и контроля качества лекарственных средств и минеральных вод. Расширение ассортимента лечебных и столовых минеральных вод (в том числе предназначенных для приготовления детского питания), особенности технологий водоподготовки, условия хранения бутылкированных вод — факторы, стимулирующие научные и эколого-гигиенические исследования в области контроля качества воды (Гончарук В В, 2003).

Исследования показали, что природная вода, обедненная газельными изотопами водорода и кислорода, обладает стимулирующим действием на различные биологические объекты и даже лечебными свойствами (Синяк Ю Э и др, 2000, Somlyai G et al, 2001). Эти результаты свидетельствуют о способности живой клетки реагировать на изменения содержания дейтерия в воде, являющегося компонентом минерального питания (Тимаков А А и др, 2003, Бальшев А В и др, 2004).

Установлено (Сурожкин А В, Успенская Е В, 2005), что на упорядочивание гигантских водных кластеров влияют такие характеристики, как содержание тяжелой воды D_2O , pH, ионная сила раствора и растворенные газы. Сочетание этих свойств в воде приводит к уникальному распределению гигантских водных кластеров и предоставляет возможность определять подлинность водных образцов по размерным спектрам кластеров.

Цель настоящей работы — изучение гетерогенности воды на супрамолекулярном уровне для разработки новых методов стандартизации и контроля качества столовых минеральных вод и ледяных лекарственных форм.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи.

- 1 Исследовать размерные спектры гигантских гетерофазных кластеров (ГГК) воды с помощью лазерного малоуглового измерителя дисперсности
2. Изучить влияние на размерные спектры и интегральные показатели дисперсности ГГК воды изотопного состава водных образцов, pH, ионной силы растворенных газов
3. Определить молекулярно-динамические характеристики воды с различным содержанием денергия с помощью метода рассеяния моноэнергетических нейтронов и ЯМР-спиновой эха
- 4 Составить атлас размерных спектров ГГК воды для жидких водных образцов подземных минеральных и искусственно приготовленных питьевых вод, поверхностных пресных морских и дождевых вод
- 5 Разработать метод экспресс-анализа минеральных вод и гомогенных жидких лекарственных форм по показателю «подлинность», основанный на дифракции лазерного света

Научная новизна Теоретически обоснована и экспериментально подтверждена пространственная гетерогенность воды. Доказано, что очищенная в лабораторных условиях высокоомная вода и природная минеральная вода, не содержащая частиц дисперсной фазы пространственно неоднородна: состоит из континуальной воды и гигантских гетерофазных водных кластеров. Впервые в научных исследованиях гомогенных водных растворов применен метод лазерной дифракции для измерения их размерных спектров. Установлено, что размерные спектры ГГК воды зависят от химического и изотопного состава водного раствора, причем устранение гетерогенности воды по изотопному составу сопровождается возрастанием гомогенности по структуре на субмиллиметровом уровне размеров. Выявлено, что среди многообразия вод природных и искусственно приготовленных можно выделить два типа отличающихся коэффициентом экстинкции.

Практическая значимость работы

Результаты проведенных исследований по изучению структуры жидкой воды на супрамолекулярном уровне легли в основу нового лазерного экспресс-метода контроля качества воды и водных растворов. Атлас размерных спектров ГГК воды, составленный для бутилированных питьевых вод 32 торговых наименований общей минерализации до 1 г/л, может быть использован для контроля их качества по показателю «подлинность».

Результаты диссертационной работы используются в учебном модуле «Современные физические и физико-химические методы стандартизации и контроля качества лекарственных средств» на кафедре фармацевтической и токсикологической химии медицинского факультета РУДН и включены в «Руководство к лабораторно-практическим занятиям по токсикологической химии» (Изд-во РУДН, 2007 г). Подана патентная заявка на экспресс-определение подлинности минеральных вод и жидких лекарственных форм с использованием лазерных методов (Успенская

Е. В. и др., 2007) Результаты внедрены в практику экспресс-анализа природных вод при выполнении исследований в рамках Федеральной целевой программы «Мировой океан» и Федеральной целевой научно-технической программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники»

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Методом лазерной дифракции показано существование в воде, не содержащей частиц дисперсной фазы, микрообластей, отличающихся от объемной воды физическими свойствами, в частности диэлектрической проницаемостью, что обуславливает структурную гетерогенность воды
2. Обнаружено, что водные кластеры размером до 0,1 мкм вызывают рассеяние монохроматического света, что позволяет применять метод лазерной дифракции для обнаружения гигантских гетерофазных кластеров воды
3. Показано что изотопный и химический состав водных растворов влияет на размерные спектры и концентрацию ГГК воды удаление дейтерия из воды приводит к диспергированию водных кластеров и снижению малоуглового рассеяния света, в интервале pH от 6 до 8 происходят значимые изменения концентрации ГГК воды изменение ионной силы раствора влияет на ранжирование водных кластеров по размеру, влияние растворенных газов менее значимо для формирования ГГК воды
4. Полученные размерные спектры ГГК воды жидких образцов стали основой для создания идентификационного атласа для экспресс-анализа гомогенных водных лекарственных форм и минеральных вод

Апробация работы.

Результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на конференциях 2-ая Всероссийская научно-методическая конференция «Фармобразование – 2005» (Воронеж 2005) VI Международная научно-практическая конференция «Здоровье и Образование в XXI век» (Москва 2005) IV Международная научная конференция студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы спортивной медицины, лечебной физической культуры, физиотерапии и курортологии» (Москва 2005), научно-практическая конференция «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции» (Ятйнгорск 2006), The 8-th Symposium of Drug Analysis (Nams Belgium 2006), научно-практическая конференция «Новая технологическая платформа биомедицинских исследований» (Ростов-на-Дону, 2006)

Публикации: по теме диссертации опубликовано 12 печатных работ

Структура и объем диссертации:

Диссертационная работа изложена на 150 страницах и состоит из следующих разделов: обзор литературы, методов исследования, результатов исследования, обсуждения результатов,

заключения выводов, библиографического списка 188 источников, из них 103 на русском и 88 на иностранных языках и приложения Работа содержит 12 таблиц, 30 рисунков

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования в настоящей работе — более 100 жидких водных образцов различного происхождения природные воды (подземные, поверхностные, дождевые) и искусственно приготовленные В их число входили бутилированные питьевые воды общей минерализацией до 1 г/л отечественных и зарубежных торговых марок, соленые воды Черного, Балтийского, Баренцева, Карского морей, пресные воды рек, ручьев, дождевые воды, водные растворы, приготовленные из солей с катионами s- и d-элементов (реактивы марки «хч») и воды с различным содержанием тяжелой воды D_2O Вода обедненная дейтерием (менее 5 ppm D/H), была получена на фирме НМТК «Айсберг» методом ректификации Денонизованную высокоомную воду (удельная электропроводность не более 5 мкСм при 25° С) готовили путем очистки пирогеиной дистиллированной воды на системе Milli-Q (фирма «Millipore», Великобритания) Грязелая вода D_2O (99,9 %) соответствовала ТУ 95-1893-89

Численное и массовое распределение гигантских гетерофазных кластеров воды по размерам (размерные спектры) определяли с помощью лазерных малоугловых измерителей дисперсности модель «MasterSizer» 3600 Ec производства фирмы «Malvern» (луч малоомощного 2 мВт He-Ne лазера коллимирован до диаметра 8 мм) или модель «Кластер» (ИДЦ-1, измеритель дисперсности лазерный) производства Г ОИИ-ИКХХВ В качестве фона использовали n-гексан (содержание влаги не более 0,005%) Для характеристики дисперсности Г К воды использовали как размерные спектры (по объемной доле), так и интегральные показатели дисперсности obscuration (Obs) затемнение (I-T), volume concentration (vc) – объемная концентрация (%), specific surface area (Ssa) – удельная площадь поверхности (m^2) Гексан и водные растворы подвергались фильтрации через фильтр «Millex» с диаметром пор 0,22 мкм за 1-2 часа до начала измерения

Определение времени спин-спиновой релаксации протонов воды проводили с помощью метода ЯМР-спинового эха Действие кратковременного импульса от передатчика на спиновую систему с частотой, равной резонансной частоте единственного типа ядер в образце приводит к возникновению сигнала свободной индукции, который спадает с характеристическим временем t_1 или t_2 С пад индуцированного сигнала, наблюдаемый вслед за импульсной последовательностью 180° t, 90° (где t – промежуток времени между соседними импульсами), применяется для определения времени спин-спиновой релаксации (Бабижаев М А и др, 2002)

Определение молекулярно-динамических характеристик воды проводили с помощью метода рассеяния моноэнергетических нейтронов (13,289 мэВ) Для расчета коэффициентов самодиффузии результаты обрабатывали по модели Оскотского-Иванова (Кармазина Т В и др., 2002)

Исследование биологической активности минеральных вод проводили на клеточном биосенсоре *Spirostomum ambigua* Установка для исследования поведения инфузории *S. ambigua*, инкубированной в водные образцы, состояла из водного термостата, 5-луночного планшета и бинокля МБС-10 (Балышев и др., 2004) Для освещения использовали маломощные лампы (10 Вт) дневного света

Методом лазерной интерферометрии исследовали кинетику релаксации гигантских гетерофазных кластеров воды в водных образцах Анализировали изменения мгновенных интерференционных картин, проецируемых на экран гелий-неоновым лазером, которые регистрировали через определенные интервалы времени Обработка результатов состояла в получении динамики изменения трех дескрипторов, отражающих степень различия полученных интерференционных картин, от времени и от порогового уровня отсеивания сигнала шума регистрируемой интерференционной картины (программа «Vidan»)

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1 Гетерогенная природа воды

Результаты наших исследований водных сред не содержащих частиц взвешенного вещества свидетельствуют о возможности применения метода лазерной дифракции для визуализации ПГК воды Это возможно в связи с незначительными различиями показателей преломления континуальной воды и воды, заключенной в гигантские кластеры Лазерный свет проходя через водную среду, рассеивается гигантскими гетерофазными кластерами воды на малый угол Новый подход к исследованию ПГК воды методом малоуглового рассеивания лазерного света, позволяет уловить разницу в значениях показателей преломления двух микрофаз воды Следовательно, воду можно рассматривать как гетерогенную субстанцию

По данным размерных спектров 20 образцов деионизованной высокоомной воды полученной и исследуемой на протяжении 2005-2006 годов, нам удалось обнаружить пять типов ПГК воды (рис. 1) Частота встречаемости полученных размерных групп различна 0,8 % для кластеров I типа 1,0 % для кластеров II типа, 0,6 % - для кластеров III и IV типов и 0,05 % – для кластеров V типа

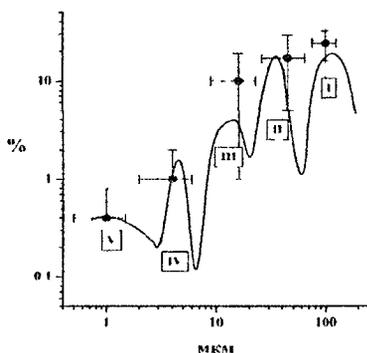


Рис. 1 Размерные спектры гигантских гетерофазных кластеров воды разных типов (I-V) и их стандартные отклонения

Представленные результаты свидетельствуют о том, что ГГК воды I и II типов присутствуют в воде чаще других, причем их доля от общего количества кластеров значительно выше

Присутствие в воде «структурных неоднородностей миллиметровых размеров» независимо обнаружено и другими исследовательскими группами (Фесенко и др., 1999; Пономарев О.А. и др., 2001). Возможность образования в воде микрообластей, которые могут отличаться от объемной воды показателем преломления объясняется, во-первых тем, что вода состоит не только из молекул H_2O и HOD но является сложной системой, включающей такие компоненты как ионы гидроксония (H_3O^+ , H_2OD^+), гидроксид-ионы (OH^- , OD^-), гидратированный электрон e_{aq}^- , тепловые нейтроны, свободнорадикальные соединения (OH^\cdot , $O^{\cdot 2}$, OH_2^\cdot), H_2O_2 , растворенные газы, анионы угольной кислоты (HCO_3^- , CO_3^{2-}) (Каличич М., 2000; Hammer N et al., 2004; Матвеева И.С. и др., 2004; Сыросшкин А.В. и др., 2005). Из всех перечисленных компонентов в депонизованной высокоомной воде наиболее высокая концентрация у дейтерия — 7,8 мМ. Заряженные и свободно-радикальные частицы присутствующие в воде, могут выступать «центрами» образования ГГК воды (Лапшин В.Б. и др., 2005). Кинетика появления/исчезновения таких «центров» определяет значения времен релаксации ГГК.

Во-вторых вода в природе и лабораторных условиях является открытой системой с «макронеоднородностями» по температуре, плотности, распределению заряда, что порождает целый комплекс стационарных и нестационарных процессов (Лапшин В.Б. и др., 2003).

2. Влияние химического состава водных растворов на структуру и свойства гигантских гетерофазных кластеров воды

Согласно представлениям о гетерогенности воды, она содержит как непрерывную воду так и упорядоченные кластеры. Гигантские гетерофазные кластеры воды, таким образом можно рассматривать как супрамолекулярные образования. Экспериментами по получению размерных

спектров ГГК воды нами было обнаружено влияние изотопного и химического состава водных растворов на структуру ГГК воды

2.1. Роль дейтерия в стабилизации гигантских гетерофазных кластеров воды

Известно (М Кактуси, 2000), что концентрация дейтерия в природных пресных водах составляет 120–155 атомов на 1 млн атомов протия (ppm), в морских водах разброс по содержанию дейтерия меньше и составляет 147±5 ppm. Учитывая необходимость дейтерия для функционирования живой клетки (Somlyai G et al, 1993, Балышев А В и др, 2004, Архипчук В В и др, 2005), мы предположили, что концентрация [D] определяет структурные особенности воды, в частности, размеры ГГК и их стабильность. Для этого были изучены размерные спектры ГГК воды и их интегральных показателей дисперсности в образцах легкой, денонизованной и тяжелой воды (рис 2)

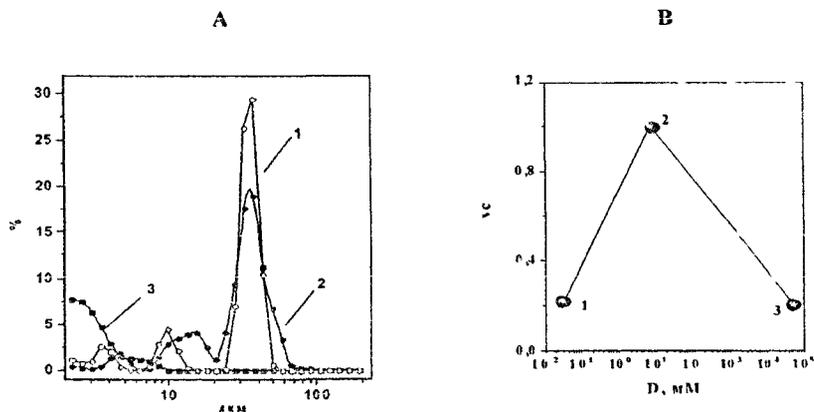


Рис 2 Влияние содержания дейтерия на ГГК воды. А - зависимость размерных спектров ГГК воды от содержания дейтерия: 1 - «легкая вода» (0,5 ppm), 2- денонизованная вода, (1,45 ppm), 3- тяжелая вода (2500 ppm), В - зависимость объемной концентрации ГГК воды от содержания дейтерия $v\%$

Оказалось, что удаление дейтерия из воды приводит к диспергированию водных кластеров и к снижению рассеяния лазерного света. Интересно, что аналогичное снижение концентрации ГГК воды происходит и при замене протия на дейтерий. Более того, эффект диспергирования кластеров выражен для тяжелой воды еще сильнее – полностью отсутствуют ГГК воды I-IV типов. Следовательно, устранение одного из изотопов приводит к увеличению однородности воды по структуре на субмиллиметровом уровне размеров.

Дейтерий-зависимая стабилизация ГГК воды подтверждена при сравнении протиевой и денонизованной воды по времени спин-спиновой релаксации протона (табл 1)

Таблица 1 Времена спин-спиновой релаксации протона и характеристики молекулярно-динамического состояния протиевой, деионизованной и тяжелой воды D - общи коэффициент самодиффузии D_1 - вклад в общи коэффициент самодиффузии от коллективных движения, D_2 - вклад в общи коэффициент самодиффузии от одночастичных движения, t_0 - время жизни молекулы в ко лебательном состоянии вокруг центра равновесия

Испытуемый образец	T_2 , сек	D_1 $\cdot 10^9, \text{ м}^2 \text{ с}^{-1}$	D_2 $\cdot 10^9, \text{ м}^2 \text{ с}^{-1}$	t_0 $\cdot 10^{12}, \text{ с}$
протиевая вода	0.347 ± 0.024	0.63	1.60	2.08
деионизованная вода	2.000 ± 0.140	0.46	1.77	2.80
тяжелая вода	-	0.52	1.50	2.79

Снижение времени спин-спиновой релаксации означает резкое уменьшение степеней свободы в протиевой воде. Действительно, удаление ГТК как отдельной фазы в жидкости приводит к получению конгинуальной воды. Полученные нами результаты хорошо согласуются с данными по понижению температуры замерзания протиевой воды до ~ -3 °С [Тимаков А.А., персон сообщение].

Увеличение числа связанных молекул в протиевой воде и большая ее "гомогенность" по структуре подтверждается изменением ее молекулярно-динамических свойств. В "легкой" воде увеличивается коэффициент диффузии, отражающий вклад от коллективных движений по сравнению с протиевой водой (см табл. 1). Ту же тенденцию демонстрирует и замена протия на деутерий в образце тяжелой воды.

2.2. Влияние pH на гигантские гетерофазные кластеры воды

Ионы H^+ и OH^- могут выступать в качестве «центров» формирования ГТК воды. При нейтральном pH объем, приходящийся на квадрупольную комбинацию двух H^+ и двух OH^- , соответствует объему кластера V типа. Не исключено, что с этим связана низкая частота встречаемости кластеров V типа. Значимые изменения в интегральных показателях дисперсности ГТК воды (резкое изменение доли кластеров I, II типов) происходят в интервале pH от 6 до 8 (рис. 3).

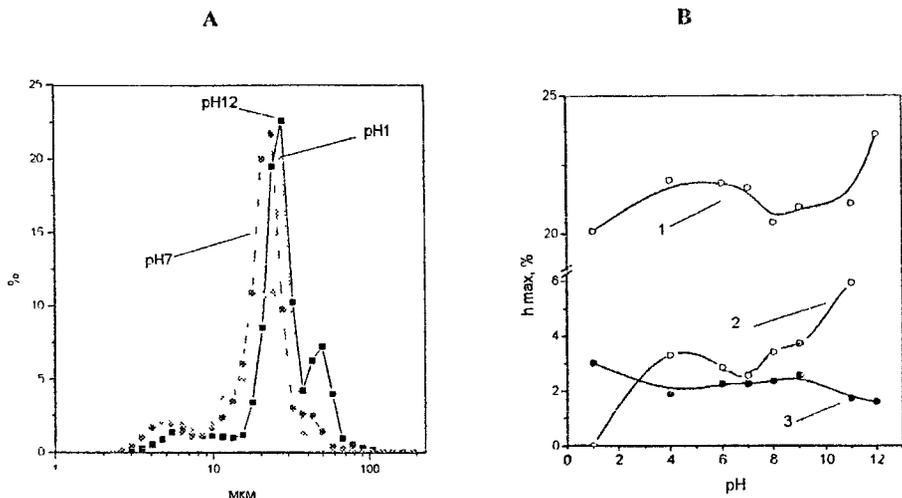


Рис 3 Влияние pH на ГГК воды. А - размерные спектры ГГК воды в растворах с различным pH. В - изменение высоты максимумов размерных спектров водных кластеров I, II и III типов диаметром ~ 50 мкм (1), ~28 мкм (2) и ~5 мкм (3)

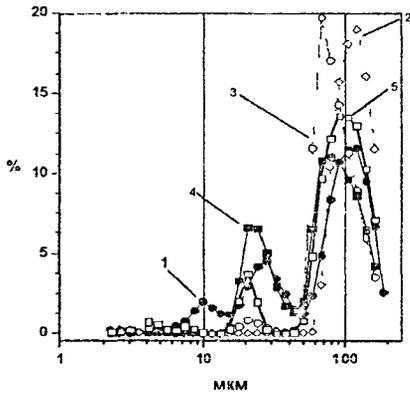
Различные типы ГГК воды по-разному реагируют на изменение pH. Так высота максимумов для кластеров I и II типов резко изменяется при увеличении pH с той же периодичностью при pH=7. Более мелкие ГГК воды, например, IV типа практически не зависят от pH. С ростом pH наблюдается тенденция к увеличению доли ГГК воды I и II типов.

2.3. Влияние ионной силы раствора на гигантские гетерофазные кластеры воды

Содержание аквакомплексов катионов металлов и различных анионов в деионизованной воде меньше < 10 пМ. В природных водах оно зависит от расположения источника и способа очистки воды. Можно предположить, что аквакомплексы катионов и анионов выступают в качестве «центров» формирования гигантских гетерофазных кластеров воды.

Нами обнаружено, что катионы s- и d-элементов по-разному влияют на формирование типов кластеров (рис 4, табл 2).

A



B

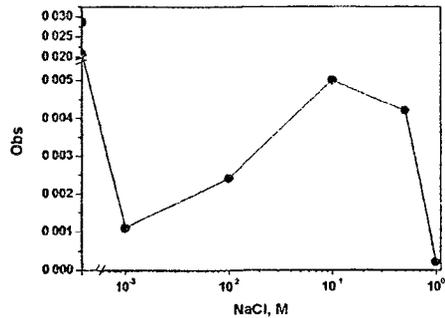


Рис 4 Влияние ионной силы растворов NaCl на ГПК воды. А — размерные спектры ГПК воды с деионизованной воде (1), в растворе с I = 0,001 М (2), I = 0,1 М (3), I = 0,5 М (4) и (5) I М, В интегральные показатели дисперсности ГПК воды

Таблица 2. Зависимость типов ГПК воды от содержания деитерия, pH, различной ионной силы растворов.

Факторы воздействия на ГПК воды					Типы ГПК воды формирующиеся при изменении изотопного и химического состава растворов
Концентрация деитерия [D] ppm	Реакция среды	Ионная сила растворов I М			
		NaCl	MgSO ₄	ZnSO ₄	
—	—	0,001			I
		0,1	0,004	0,004	I, II
5 («легкая» вода)	pH < 7	—	0,4	—	II, IV
	pH ~ 7	—	—	—	III, IV
-145 (деионизованная вода)	—	—	—	—	
	pH > 7	0,5	—	—	I, II, IV
—	—	1,0	—	0,4	I, II, III, IV
	250000 (тяжелая вода)	—	—	—	V

Так в растворах NaCl при ионной силе I=0,001 М формируются кластеры I типа, при этом пропускание монохроматического пучка света резко возрастает по сравнению с деионизованной

водой. Увеличение ионной силы раствора в 100 раз способствует зарождению кластеров II типа, но пропускающая способность раствора резко падает и становится близка к деионизованной воде. Дальнейшее увеличение ионной силы в 5 и 10 раз приводит к диспергированию кластеров и уменьшению их объемной доли (см табл 2)

В исследуемом интервале концентраций наименьшая объемная доля ГГК воды I типа и наибольшая объемная доля ГГК воды II типа соответствует раствору, ионная сила которого составляет 1–0,5 М

Несмотря на одинаковый заряд ионов металлов, магния сульфат и цинка сульфат по-разному влияют на размерные спектры ГГК воды. При равенстве значений ионной силы на формирование кластеров воды, по-видимому, влияют как размер иона металла, так и его природа.

2.4 Влияние растворенных газов на размерные спектры ГГК воды

Эксперимент по удалению растворенного кислорода кипячением или вытеснением его из воды аргонном показал, что влияние газового состава на распределение кластеров воды по размерам не существенно. Размерные спектры ГГК воды, имеющие основные максимумы при 10 мкм, 30 мкм и 100 мкм претерпевают перераспределения: выросла доля (%) ГГК воды II и III типов за счет уменьшения доли кластеров I типа. Об этом свидетельствуют и такие интегральные характеристики дисперсности, как удельная площадь поверхности ГГК воды (m^{-1}). Для трех типов исследуемых водных образцов это значение оставалось постоянным и составляло $0,06 m^{-1}$

3. Строение ГГК воды и возможные механизмы их формирования

Представленные результаты по диспергированию ГГК воды и снижению их объемной концентрации при уменьшении содержания дейтерия, а также результаты по зависимости ГГК от pH и ионной силы раствора (см табл 2) позволяют предложить следующую гипотетическую модель структуры воды на супрамолекулярном уровне

На I этапе - ГГК воды IV и V типов группируются из нанокластеров. Механизм этого явления состоит из группирования вокруг «центров» формирования новой фазы кластеров за счет дисперсионных сил

На 2 этапе возможно, происходит группирование мелких ГГК (IV и V типов) в крупные ГГК (III-I типов). Движущей силой этого превращения могут быть сопряженные процессы электротермодиффузии, энергетически обеспеченные неравновесными процессами тепло- и массопереноса в градиентных полях температуры и электрического поля (Лапшин В Б и др., 1998). Это приводит к временному разделению в пространстве ионов, т.е. к концентрированию H^+ в элементе объема воды диаметра около 100 мкм, увеличением концентрации OH^- и OD^- на периферии кластеров I типа. На периферии кластеров II–IV типов концентрируются OD^- , как наименее подвижные ионы (рис 5)

Термодинамической и кинетической стабилизации образовавшегося ГТК способствует образование (за счет различий рН между фазой ГТК и континуальной воды) градиента электрохимического потенциала вплоть до 10^6 В/см. Электрическая составляющая этого градиента приводит к эффекту уплотнения упаковки диполей воды (Лапшин В.Б и др., 2002), способствуя возникновению мембраны, стабилизирующей структуру ГТК (подобно тому, как биологическая мембрана стабилизирует содержимое клетки).

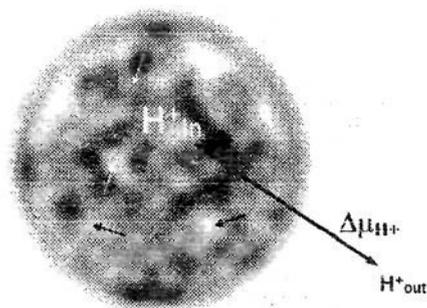


Рис. 5. Модель гигантского гетерофазного кластера воды. Более мелкие ГТК различных размеров (короткие стрелки) могут группироваться в более крупные кластеры. Границы между кластерами и континуальной водой размытые, вследствие теплового движения молекул.

4. Атлас размерных спектров гигантских гетерофазных кластеров воды гомогенных водных образцов различного происхождения

На формирование гигантских гетерофазных водных кластеров влияют: изотопный состав водного раствора, рН, ионная сила раствора, растворенные газы, природа ионов *s*- и *d*-элементов, что совокупно значимо для формирования размерных спектров гигантских гетерофазных кластеров воды. Сочетание перечисленных параметров определяет уникальную комбинацию размерных спектров ГТК воды водных растворов. Для составления атласа вод природного и искусственного происхождения (подземных, поверхностных и осадков) Западной Европы и Европейской части России от Новороссийска до Земли Франца Иосифа нами получены размерные спектры более 70 водных образцов. Все образцы вод характеризуются уникальностью спектров и содержат гигантские гетерофазные кластеры воды от 1 мкм до 110 мкм.

Минеральные воды с индивидуальным химическим составом и способом получения имели уникальные виды (рис. 6).

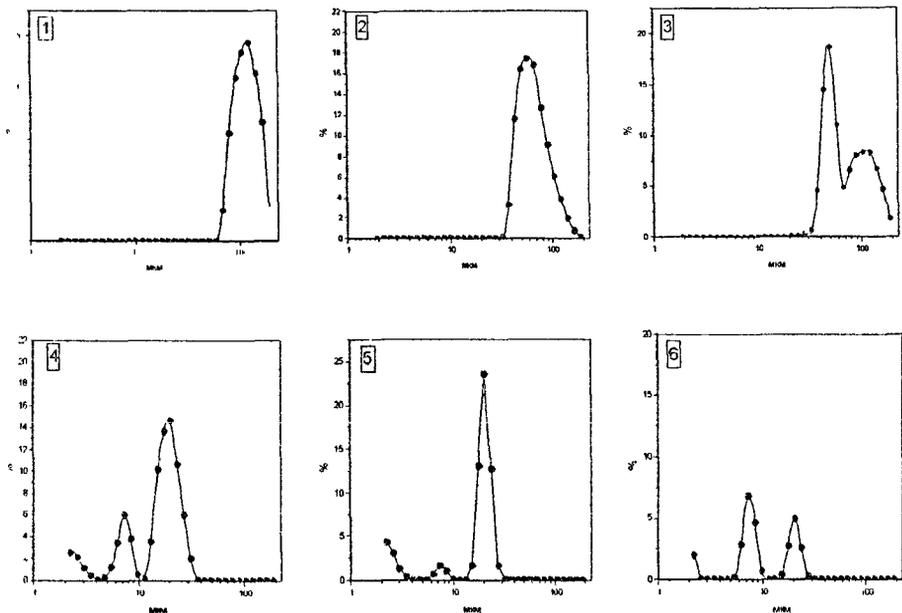


Рис. 6. Примеры размерных спектров ГТК воды минеральных вод: 1 - Aqua Minerale (Pepsi Bottling Group Russia), 2 - Bon Aqua (The Coca-Cola Company), 3 - Saint Springs (ЗАО "Серебряный источник" Россия), 4 - Archuz (ЗАО "Висма" Россия), 5 - L'Or (L'Or L'ID Корс), 6 - L'Or (S A des Eaux minerales d'Evian, Франция)

Таким образом, возможно установление взаимно однозначных соответствий природа минеральной воды – вид размерного спектра, по аналогии с гетерогенными системами «Т-Ж», в частности, лекарственных средств гетерогенной природы (Сыроешкин А В и др. 2004, PhEur)

Тот факт, что каждый исследуемый водный образец характеризуется индивидуальным минеральным и газовым составом обуславливает индивидуальность ГТК воды. Особое внимание уделялось герметичности упаковки бутылкированной воды, так как поглощенный извне углекислый газ изменяет состав воды, pH и, как следствие, структуру ГТК воды (Успенская Е В и др., 2006)

С целью изучения биологической активности исследуемых вод был использован клеточный биосенсор *Spirostomum ambigua*, который применялся ранее для исследования активности компонентов лекарственных средств (Плетенева Т В, 1993, Быканова С Н и др., 2003, Балышев А В и др. 2004). Нами показано, что время жизни клеточного биосенсора в различных водах природных и искусственно приготовленных, различно.

5. Двуструктурная модель воды

Анализ интегральных характеристик дисперсности ГГК воды мы представили в виде графического изображения уравнения $I / I_0 = 10^{-kx}$. Это стало возможным благодаря тому, что при малых значениях концентрации рассеивающих или поглощающих в растворе частиц величина затемнения «Obscuration» ($1 - I_0/I$) равна экстинкции «A» ($\lg I_0/I$) т.к. при $x \rightarrow 0 \lim \ln(1 - x)/x = -1$. Как было показано нами, по данным соотношений Бугера-Лаберта-Бэра ($Obs - Vc$) существуют два типа вод для рассеяния лазерного света гигантскими гетерофазными кластерами воды (рис 7)

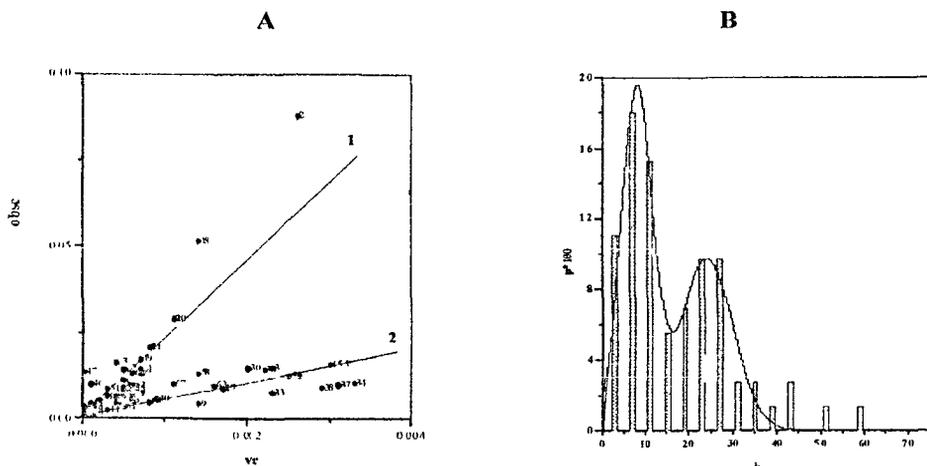


Рис 7 А - Соотношение Бугера-Лаберта-Бэра для вод природных и искусственно приотомленных бидистиллированная вода, полученная в разное время 6,8,9, дегазированная бидистиллированная вода 2,3, бидистиллированная вода относительно фона воды 1, 4С 4, 5, бидистиллированная вода с значением рН от 1 до 12 - 18-25, 1мМ 1М растворы NaCl 10-13, 1мМ 1М растворы MgSO₄ 14-15, 1мМ 1М растворы ZnSO₄ 16-17, бутылочные минеральные питьевые воды 30-63, морские воды 67-69, осадки западной Арктики 70-71, **В** частотный спектр распределения анализируемых вод с различными значениями коэффициента экстинкции «k»

Вторая группа представлена более широким кругом водных образцов, среди которых деионизованная вода, в том числе и дегазированная, воды с восстановленным солевым составом и все воды природного происхождения. Деионизованная вода встречается в обеих группах вод.

Разделение воды на две группы возможно, учитывая существование спин-модифицированной воды с метастабильным отклонением от равновесного соотношения, 3:1, количеств орто- и парамолекул воды (Бини и В.Н., 2002).

6. Элементы валидации метода анализа

С целью подтверждения обоснованности выбора метода лазерной дифракции для контроля качества минеральных вод и жидких лекарственных форм, проводили его оценку по характеристике «повторяемость».

Повторяемость устанавливали путем согласованности результатов измерений размерных спектров растворов натрия хлорида для инфузий 0,9% разных серий и пяти производителей. Размерные спектры и интегральные показатели дисперсности ГГК воды получали с помощью программы «Particle_App», статистическую обработку полученных объемных распределений кластеров по размерам проводили с помощью программы Origin 6,0 (рис. 8).

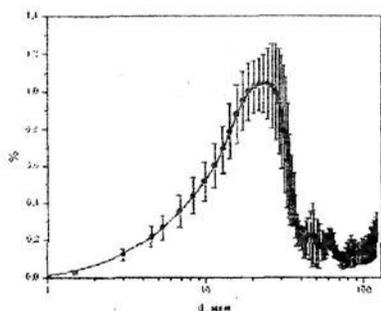


Рис. 8. Размерные спектры ГГК воды растворов натрия хлорида 0,9% для инфузий и их стандартное отклонение, $n = 20$, $\rho = 0,95$.

Как показали результаты анализа, размерные спектры растворов натрия хлорида представлены, в основном, двумя размерными группами – II и I типами ГГК воды, доля которых составляет $1,04\% \pm 0,15$ и $0,22\% \pm 0,17$ соответственно, при $n=20$, $\rho=0,95$.

7. Разработка лазерных экспресс-методов определения подлинности минеральных вод и гомогенных водных жидких лекарственных форм.

Расширение рынка жидких фармацевтических препаратов, минеральных и лечебных вод стимулирует разработку методов анализа, исключая недостатки стандартных методов, для контроля качества и определения подлинности продукции, в том числе, без вскрытия упаковки. Хорошо известны изотопные эффекты воды с измененным содержанием дейтерия (Тимаков и др., 2003). С созданием и введением в ежедневный рацион питьевой «легкой» воды становится особенно актуальным внедрение лазерных методов экспресс-анализа в практику контроля ее качества, поскольку, анализ воды с пониженным, по отношению к эталонной воде (155 ppm), содержанием дейтерия, зачастую, сложен. Как показано в настоящей работе, совокупность характеристик водных образцов (изотопный состав, pH, ионная сила раствора, растворенный кислород) значимы для формирования размерных спектров ГГК воды.

Следовательно, результаты наших исследований в области гетерогенной структуры воды простота исполнения и трактовки результатов по визуализации размерных спектров водных кластеров (по причине существования взаимнооднозначных соответствий – «химический состав раствора – вид размерного спектра») могут быть применены для экспресс-контроля качества бутилированных вод и жидких гомогенных лекарственных форм

Для применения метода анализа, основанного на лазерной дифракции монохроматического света, существуют фирменные приборы производства фирмы «Malvern». Кроме того, при нашем участии разработаны новые приборы: лазерный определитель дисперсности «Кластер-1» и лазерный интерферометр – когерентный микроскоп «Кластер-2» производства ГОИН-ИКХХВ. «Кластер-2» позволяет устанавливать подлинность гомогенного водного раствора (питьевые воды, инфузионные растворы и т.п.) без вскрытия упаковки. Себестоимость анализа с помощью данного метода не высока, время анализа и обработки результатов измерения – в пределах нескольких минут, что может быть использовано в лабораториях фармацевтических предприятий, контрольно-аналитических лабораториях, таможенных органах, в розничной торговле.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаружен факт образования гигантских (до 0,1 мм) гетерофазных кластеров воды (супрамолекулярных комплексов) со значительными временами релаксации. Формирование гигантских водных кластеров, отличающихся от континуальной воды диэлектрической проницаемостью, можно объяснить существованием различных молекулярных и заряженных частиц в воде, а также неравновесным состоянием воды в обычных условиях, что обуславливает гетерогенность структуры воды. Именно это легло в основу применения нами метода рассеяния монохроматического света водными кластерами на малый угол с помощью малоугловых измерителей дисперсности (МИД). Присутствие в воде ГТК вызывает рассеяние лазерного излучения на малый угол, следовательно, уменьшение интенсивности проходящего через водный образец монохроматического света. Снижение содержания дейтерия в воде приводит к диспергированию и, в конечном счете, исчезновению ГТК в воде. Новый подход к визуализации ГТК воды в водных образцах на основе лазерной дифракции и интерференции монохроматического света позволяет уловить незначительную разницу в значениях показателей преломления двух микрофаз воды. Следовательно, воду можно рассматривать как субстанцию гетерогенной структуры. В ходе исследования удалось определить влияние на формирование гигантских водных кластеров химического и изотопного состава исследуемых водных образцов. Постоянство состава растворов играло немаловажную роль в формировании и воспроизводимости размерных спектров.

Вид статистического распределения ГТК воды по размерам и совокупность интегральных характеристик дисперсности исследуемых водных образцов позволяет однозначно определить производителя питьевой воды. Результаты открывают перспективы внедрения нового метода контроля качества и идентификации минеральных вод.

ВЫВОДЫ

1. Впервые исследованы размерные спектры гигантских гетерофазных (ГТК) водных кластеров с помощью лазерного малоуглового измерителя дисперсности.
2. Экспериментально показано, что удаление дейтерия из воды приводит к диспергированию водных кластеров и к уменьшению их содержания.
3. Установлено, что значимые изменения размерных спектров и интегральных показателей дисперсности ГТК воды происходят в интервале pH от 6 до 8.
4. Показано, что при значении ионной силы раствора $I=0,001$ М формируются кластеры I типа. Увеличение ионной силы в 100 раз способствует зарождению кластеров II типа. Дальнейшее увеличение ионной силы в 5 и 10 раз приводит к диспергированию кластеров и уменьшению их объемной доли.
5. «Гетерогенность» структуры воды подтверждается изменением ее молекулярно-динамических свойств. Подтверждена дейтерий-зависимая стабилизация ГТК воды при сравнении протиевой и деонизированной воды по времени спин-спиновой релаксации протона $0,35 \pm 0,02$ с и $2,0 \pm 0,1$ с, соответственно.
6. Составлен атлас размерных спектров ГТК воды минеральных бутылированных вод и природных вод разных регионов.
7. Предложен экспресс-метод контроля качества минеральных вод и гомогенных жидких лекарственных форм по показателю «подлинность» на основе лазерной дифракции света.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Сыроешкин А.В., Успенская Е.В., Смирнов А.Н., Лесников Л.В., Плещенева Г.В. Современные методы стандартизации и контроля качества лекарственных средств, основанные на применении лазерной дифракции, при выполнении дипломных работ и постдипломном обучении // Материалы 2-й Всероссийской научно-методической конференции «Фармаобразование-2005» – Воронеж - 2005 С. 405-406.
2. Успенская Е.В. Контроль качества лекарственных средств, жидкофазной продукции пищевой промышленности, столовых и лечебных минеральных вод с применением малоуглового лазерного измерителя дисперсности // IV Международная научная конференция студентов и молодых ученых "Актуальные вопросы спортивной медицины, лечебной физической культуры, физиотерапии и курортологии" – Москва - 2005 С. 39.

3. Попов ПИ Успенская ЕВ, Гольго ЛП, Гранина НА Разработка установки для определения подлинности и экспресс-контроля качества растворов жидких и растворимых веществ // IV Международная научная конференция студентов и молодых ученых "Актуальные вопросы спортивной медицины, лечебной физической культуры, физиотерапии и курортологии" - Москва - 2005 С 32
4. Успенская ЕВ Смирнов АН, Плетенева ТВ, Лапшин ВБ, Сыроешкин АВ Структура воды и проблема минерального питания // VI Международная научно-практическая конференция «Здоровье и образование в XXI веке» - Москва - 2005 Материалы конференции С 481-482
5. Сыроешкин АВ, Балышев АВ, Бубычин МД, Гребенникова ГВ Григорьев АВ, Игнатченко АВ Колесников МВ, Лапшин ВБ, Матвеева ИС, Плотникова НВ Успенская ЕВ Экспедиция Государственного океанографического института в Западной Арктике // «Метеоспектр» - 2006 - №1 С 117-122
6. Успенская ЕВ, Сыроешкин АВ Применение лазерного малоуглового измерителя мутности для контроля качества питьевых бутылированных вод // Международная научно-практическая конференция «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции» - Пятигорск - 2006 С 312-316
7. Pleteneva T V, Syroeshkin A V, Uspenskaya E V Smirnov A N A method of identification and quality control of water homogeneous pharmaceutical preparations 8th international symposium «Drug analysis» Namur, Belgium - 2006 - PC 14
8. Смирнов АН, Лапшин ВБ, Гончарук ВВ, Успенская ЕВ Николаев НН, Лебедев ИМ, Карамзина ГВ, Самсонов-Годоров АО, Попов ПИ, Сыроешкин АВ Вода как гетерогенная структура // Электронный журнал «Исследовано в России», <http://zhurnal.ire.ras.ru/articles/2006/088.pdf> - 2006 - С 843-854
9. Сыроешкин АВ, Лесников ЕВ, Смирнов АН, Попов ПИ, Успенская ЕВ, Плетенева ГВ, Гончарук ВВ Новые лазерные методы определения подлинности и контроля качества лекарственных средств // Вестник РУДН - 2006 - №2 (32) С 90-94
10. Успенская ЕВ, Тазина ЕВ, Ротанов МВ, Плетенева ТВ, Сыроешкин АВ Влияние трихлоруксусной кислоты на формирование гигантских гетерофазных кластеров воды // Научно-практическая конференция «Новая технологическая платформа биомедицинских исследований» - Ростов-на-Дону - 2006 Материалы конференции С 30-31
11. Плетенева ТВ, Потапова НИ, Успенская ЕВ, Попов ПИ, Гребенникова ГВ, Сыроешкин АВ Проблемы стандартизации в фармации архивизмы и перспективы // Научно-практическая конференция «Новая технологическая платформа биомедицинских исследований» - Ростов-на-Дону - 2006 Материалы конференции С 97-98
12. Успенская ЕВ, Сыроешкин АВ, Смирнов АН, Гончарук ВВ, Плетенева ТВ, Лапшин ВБ Изучение структуры воды на супрамолекулярном уровне для разработки новых экспресс-методов определения подлинности минеральных вод и жидких лекарственных форм // «Фармация» - 2007 - № 3 С

Успенская Елена Валерьевна (Россия)

Изучение структуры воды на надмолекулярном уровне для разработки новых методов стандартизации и контроля качества минеральных вод и жидких лекарственных форм

В работе лазерными методами исследована структура воды на супрамолекулярном уровне. Показано, что малоугловое рассеяние света водным образцом обусловлено присутствием в воде водных кластеров, отличающихся от конинуальной (объемной) воды показателем преломления. Получены размерные спектры более семидесяти водных образцов различного происхождения и составлен атлас для бутылированных вод с общей минерализацией до 1 г/л и природных вод. Изучено влияние на формирование гигантских гетерофазных кластеров воды химического и изотопного состава водных растворов. Предложена модель строения и возможные механизмы формирования ГЛВВ. Разработан новый метод идентификации гомогенных жидких водных лекарственных форм и минеральных вод на основе нового отечественного прибора.

Elena V Uspenskaya (Russia)

The water structure of supra molecular stratum studding for development of new methods standardization and quality control of mineral water and liquid pharmaceutical preparations

The supramolecular structure of water was investigated. It was shown the low angle laser light scattering of water sampling rides on the 1,0 nm water clusters presence that differing from volume water in refraction index. The dimension spectra more then 70-th water samples of different origin was obtained. The atlas of bottled spring water with total mineralization under 1g/l was compiled. Chemical and isotopic composition of water solutions effect on the formation the giant heterophase water clusters (GHWV) was researched. The model and possible ways of GHWV formation were proposed. It was developed a new method of homogeneous water liquid pharmaceutical preparations and mineral water identification.

Отпечатано в ООО «Оргсервис—2000»
Подписано в печать 06 04 07 Объем 1,25 п л
Формат 60х90/16 Тираж 100 экз Заказ № 06/04—4т
115419, Москва, Орджоникидзе, 3