

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОЕ АГЕНТСТВО
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ТОКСИКОЛОГИИ**

192019, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д.1
Телефон/факс: (812) 412-91-65

e-mail: pharmtest@sp.ru
www.toxicology.ru

" У Т В Е Р Ж Д А Ю "

Директор ФГУН «ИНСТИТУТ
ТОКСИКОЛОГИИ» ФМБА России
доктор медицинских наук, профессор



С. П. Нечипоренко

" 9 " 08 2010 г.

ОТЧЕТ

об экспериментальном изучении биологической активности водопроводной воды, пропущенной через фильтр «Золотая Формула ZF-5» производства ООО «Холдинг «Золотая Формула», г. Всеволожск

Научный руководитель
кандидат медицинских наук,
ведущий научный сотрудник

С.В.Степанов

г. Санкт-Петербург, 2010 г.

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Кандидат медицинских наук
ведущий научный сотрудник
(ответственный исполнитель)



С.Е. Колбасов

Младший научный сотрудник



О.А. Вакуненкова

Кандидат медицинских наук,
старший научный сотрудник



М.В. Мелихова

Кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник



М.А. Рожко

Работу обеспечивали:

Лаборанты-исследователи:

Булыгина М.И., Васильева Т.В., Габдракипова Р.А.

Врач-ветеринар:

Храброва А.В.

РЕФЕРАТ

Отчет изложен на 16 страницах машинописного текста, содержит 7 таблиц и включает 17 литературных источников.

«ЗОЛОТАЯ ФОРМУЛА ZF-5»; СИСТЕМА ОЧИСТКИ ВОДЫ;
ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ ВОДООЧИСТИТЕЛЯ.

Объект исследования – вода после фильтрации системой очистки воды «Золотая Формула ZF-5» (ТУ 3697-001-96144318-2008) производства ООО «Холдинг «Золотая Формула» (г. Всеволожск, Ленинградская область, ул. Достоевского, д. 32/53).

Цель работы – определение биологической активности воды после фильтрации.

В процессе работы проводились экспериментальные исследования биологической активности воды после фильтрации для определения ее положительного влияния на организм.

Показано, что вода после фильтрации обладает биологической активностью.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ	7
1. Исследование адаптационных свойств воды после очистки установкой «Золотая Формула ZF-5»	7
1.1. Материалы и методы	7
1.2. Результаты исследования адаптогенной активности	8
1.3. Восстановление способности к прямолинейному движению после вращения ..	8
1.4. Влияние на статико-силовую выносливость мышей	9
1.5. Влияние на длительность плавания мышей	10
1.6. Антигипоксическое действие	10
1.7. Показатели функционального состояния адаптационных систем организма ..	12
1.8. Заключение	13
1.9. Литература	13
2. Показатели активности нервной системы крыс при употреблении отфильтрованной воды	15
2.1. Литература	15
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	16

ВВЕДЕНИЕ

ООО «Холдинг «Золотая Формула» производит системы очистки воды на основе УСВР (углеродная смесь высокой реакционной способности патенты №2163883, №2163840, №2184086). Установки «Золотая Формула ZF-5» (ТУ 3697-001-96144318-2008) предназначены для удаления из питьевой воды взвешенных частиц, запахов, мутности, цветности, органических соединений, свободного активного хлора, хлорорганических соединений, трехвалентного железа, осадка гидроксида трехвалентного железа (ржавчины), меди, алюминия, цинка, тяжелых металлов, жиров, нефти, нефтепродуктов.



Рис. 1. Устройство фильтра «Золотая Формула ZF-5»

Фильтр «Золотая Формула ZF-5» (рисунок 1) имеет две емкости — емкость для приема фильтруемой воды (наливная емкость) — 5 литров и емкость для отфильтрованной воды (емкость чистой воды) — 7 литров. В основание наливной емкости вкручивается картридж с УСВР.

Загрязнения, накапливающиеся в фильтре, прочно удерживаются УСВР и не вымываются в отфильтрованную воду. Извлечение загрязнений из воды осуществляется посредством:

- ее сорбции сорбентом;
- вследствие задержания взвешенных частиц и образования осадка в толще фильтрующего слоя.

Технология обработки воды в установках «Золотая Формула ZF-5» позволяет предполагать появление у очищенной воды биологически-активных свойств за счет удаления из нее вредных и опасных для здоровья веществ. В этом случае вода при регулярном употреблении может повышать адаптационные возможности организма и способствовать восстановлению нарушенных функций при заболеваниях.

Поэтому целью настоящего исследования являлось сравнение влияния воды после фильтрации фильтром «Золотая Формула ZF-5» с влиянием водопроводной нефilterованной воды и натуральной минеральной столовой негазированной воды «Эвиан» («Evian») (Франция, поставляется LLC PepsiCo Holdings, Московская область, Солнечногорский район, свободная экономическая зона, д. 1) на состояние организма экспериментальных животных.

Исследования были выполнены в соответствии с нормативным документом «Определение безопасности и эффективности биологически активных добавок к пище». МУК 2.3.2.721-98. МЗ РФ. М., 1999, 87 с.

Работа выполнена по заказу ООО «НПФ «БИОС» (198099, г. Санкт-Петербург, ул. Калинина, д. 13) в ФГУН «Институт токсикологии» ФМБА России, г. Санкт-Петербург.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1. ИССЛЕДОВАНИЕ АДАПТАЦИОННЫХ СВОЙСТВ ВОДЫ ПОСЛЕ ОЧИСТКИ УСТАНОВКОЙ «ЗОЛОТАЯ ФОРМУЛА ZF-5»

1.1. Материалы и методы

Выбор направлений изучения биологической активности воды после фильтрации фильтром «Золотая Формула ZF-5» определялся предполагаемыми показаниями к ее применению, главным из которых является адаптация организма к неблагоприятным и экстремальным факторам окружающей среды.

Из сравнительных нагрузочных тестов использовались модели антагонизма с гексеналом (антинаркотическое действие) по продолжительности гексеналового сна [1], учет длительности восстановления способности к прямолинейному движению после вращения по К.Г. Васильеву [2], максимальной длительности статической работы (удержание белыми мышцами своего тела на вертикальной сетке), длительности плавания мышцей с грузом (динамической работы) [3]. Из моделей экстремальных факторов использовали моделирование гипоксии в замкнутом объеме («баночная гипоксия») [4].

Воду (водопроводную, водопроводную после фильтрации и бутилированную «Эвиан» («Evian»)) наливали в поилки на протяжении одного месяца белым нелинейным мышам, которые находились в садках по 10 особей одного пола при свободном доступе к воде. Белые нелинейные мыши-самцы (масса 18–20 г, возраст 8–9 недель) поступили из питомника РАМН «Рапполово», Ленинградская область.

Динамику веса животных определяли на весах ВЛР-500.

Содержание восстановленного глутатиона в печени определяли иодометрически [5], сульфгидрильных групп сыворотки крови — амперометрическим титрованием по Н.С. Рубиной [6], содержание гликогена — методом Самодьи [7].

Кровь для биохимических исследований получали после декапитации животных.

Содержание общего белка и липидов, холестерина, билирубина сыворотки крови определяли с помощью наборов Био-Лат-Тест Чешской фирмы «Лахема». Уровень глюкозы в крови и гомогенатах органов определяли ортотолуидиновым методом.

Интенсивность тканевого дыхания в гомогенатах органов определяли манометрическим методом Варбурга [8, 9]. Содержание АТФ — хроматографически [10].

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили по Стьюденту и Фишеру.

1.2. Результаты исследования адаптогенной активности

1.2.1. Антагонизм с гексеналом

Антагонизм воды с гексеналом определялся после месяца ее ежедневного употребления мышами. Контрольная группа животных получала водопроводную воду. Гексенал вводился подкожно в дозе 70 мг/кг. Результаты теста представлены в таблице 1.

Таблица 1

Продолжительность гексеналового сна мышей после употребления фильтрованной воды ($M \pm m$)

Группы животных	Длительность сна, мин
Контроль (водопроводная вода)	25.2 ± 1.4
«Эвиан» («Evian»)	20.2 ± 0.6*
Фильтрованная вода	20.1 ± 0.7*

* — достоверные отличия от контроля при $P < 0.05$

Полученные данные свидетельствуют о достоверном наличии у профильтрованной воды и воды «Эвиан» («Evian») антинаркотического действия (длительность гексеналового сна сократилась), т.е. регулярное употребление этих вод повышает детоксицирующую функцию печени (она быстрее обезвреживает гексенал).

1.3. Восстановление способности к прямолинейному движению после вращения

Тест учета длительности восстановления способности к прямолинейному движению после вращения демонстрирует эффективность воды повышать адаптацию вестибулярного препарата к перегрузкам. Радиальное ускорение создавалось путем вращения мышей в центрифуге продолжительностью 15 секунд со скоростью 600 об/мин. Мыши при этом помещались в цилиндрические пластмассовые пробирки, закрытые с наружной стороны проволочной сеткой. Обычно после вращения извле-

ченные из центрифуги мыши вращались вокруг продольной оси туловища или совершали маневренные движения (перемещались по кругу).

В эксперименте использовали группы животных после ежедневного употребления на протяжении месяца исследуемых вод. Каждую группу составляли 10 особей мужского пола. Одновременно вращали равное количество животных из каждой группы. Результаты представлены в таблице 2. Они свидетельствуют о том, что отфильтрованная вода и вода «Эвиан» («Evian») достоверно уменьшали длительность восстановительного периода после вращения, т.е. улучшали способность вестибулярного аппарата и нервной системы к адаптации к радиальному ускорению.

Таблица 2

Длительность восстановления способности к прямолинейному поступательному движению мышей после вращения в центрифуге 15 секунд со скоростью 600 об/мин ($M \pm m$)

Группы животных	Время восстановления, секунд
Контроль (водопроводная вода)	204.5 ± 7.2
«Эвиан» («Evian»)	157.9 ± 6.7*
Отфильтрованная вода	153.6 ± 6.3*

* — достоверные отличия от контроля при $P < 0.05$

1.4. Влияние на статико-силовую выносливость мышей

Влияние воды на статико-силовую выносливость изучали, регистрируя время висения мышей опытных и контрольной групп на вертикальной сетке. Животных тестировали после месячного ежедневного употребления исследуемых вод. Критерием истощения статической силы считали время, когда мышь уже не могла удерживать вес своего тела и падала с сетки вниз (собственный вес мышей составлял в среднем 26 г).

Результаты эксперимента представлены в таблице 3. Они демонстрируют увеличение статической физической выносливости под воздействием отфильтрованной воды и воды «Эвиан» («Evian»).

Физическая выносливость мышей в тесте статической силовой нагрузки собственным весом ($M \pm m$)

Группы животных	Длительность висения, мин
Контроль (водопроводная вода)	20.8 ± 0.7
«Эвиан» («Evian»)	$26.0 \pm 0.3^*$
Отфильтрованная вода	$27.5 \pm 0.4^*$

* — достоверные отличия от контроля при $P < 0.05$

1.5. Влияние на длительность плавания мышей

Плавание является тяжелой физической динамической нагрузкой, позволяющей оценить эффективность адаптогенов [11]. Оно осуществлялось с грузом (свинцовая трубка на резиновом кольце, прикрепляемая к корню хвоста), равным 5% от веса тела, при температуре воды 38° – 39° С. Критерием утомления и прекращения плавания считали первое «ныряние» с погружением носовых ходов в воду. В большой ванне одновременно плавали по 5 животных из каждой наблюдаемой группы. Тестирование мышей проводили через месяц после ежедневного употребления воды (таблица 4).

Длительность плавания мышей с грузом после употребления воды ($M \pm m$)

Группы животных	Длительность плавания, мин
Контроль (водопроводная вода)	26.2 ± 4.9
«Эвиан» («Evian»)	$49.9 \pm 5.2^*$
Отфильтрованная вода	$50.6 \pm 6.0^*$

* — достоверные отличия от контроля при $P < 0.05$

Они показывают, что при применении отфильтрованной воды и воды «Эвиан» («Evian») увеличивается продолжительность плавания.

1.6. Антигипоксическое действие

Дыхание из замкнутого пространства — респерация — является достаточно адекватной и простой моделью острой гипоксии [12, 13]. Животное, поглощая кислород из замкнутого пространства вследствие дыхания, вызывает развитие его дефицита

— гипоксическую гипоксию, что позволяет оценивать исследуемый адаптоген по интегральным показателям летальности за определенное время наблюдения и устойчивости к дефициту кислорода (максимальной продолжительности жизни).

Животные помещались в банку объемом 250 мл, плотно закрытую стеклянной крышкой, смазанной герметиком. Фиксировали с помощью секундомера максимальную продолжительность жизни и симптомы танатогенеза. Банки с животными во время исследования находились в кондиционере, обеспечивающем постоянство условий эксперимента (температура + 20°C, влажность — 65–70%, атмосферное давление). Контролем служили животные, употреблявшие водопроводную воду.

После гибели у каждого животного *ex tempore* получали головной мозг, проводили его гомогенизацию (400 об/мин, 10 ходов пестика) [14] и определяли в гомогенате активность каталазы, уровень диеновых конъюгатов и гидроперекисей липидов [15, 16]. Эти показатели позволяют оценивать антиоксидантные свойства употребления исследуемых вод. Результаты исследования представлены в таблице 5.

Таблица 5

Эффективность отфильтрованной воды в тесте «баночной гипоксии» ($M \pm m$)

Группы животных	Показатель			
	Продолжительность жизни, мин	Малоновый диальдегид, нмоль/мг белка	Каталаза, мкмольH ₂ O ₂ /мг мин	Гидроперекиси липидов, ед. опт. плотности при 480 нм
Контроль (водопроводная вода)	29.0 ± 2.0	4.38 ± 0.69	3.47 ± 0.55	0.53 ± 0.01
«Эвиан» («Evian»)	46.4 ± 0.7*	4.07 ± 0.58	5.38 ± 0.62	0.47 ± 0.01*
Отфильтрованная вода	49.0 ± 0.8*	3.65 ± 0.56	5.51 ± 0.71	0.45 ± 0.01*

* — достоверные отличия от контроля при $P < 0.05$

Оказалось, что отфильтрованная вода и вода «Эвиан» («Evian») достоверно увеличивают время жизни мышей, при этом стабилизировались показатели перекисного окисления липидов (снижались уровни малонового диальдегида и гидроперекисей липидов мозга) и восстанавливалась антиокислительная (каталазная) активность, что свидетельствует об увеличении резервной антиокислительной активности мозга.

1.7. Показатели функционального состояния адаптационных систем организма

Показатели, характеризующие энергетический обмен, обмен липидов и антиоксидантную активность организма, представлены в таблице 6.

Таблица 6

Показатели функционального состояния адаптационных систем организма

Показатели	Группы животных		
	Контроль (водопроводная вода)	«Эвиан» («Evian»)	Отфильтрованная вода
Масса тела, г	27.0 ± 1.3	27.2 ± 1.0	27.8 ± 1.0
Количество потребляемой воды в мл/сутки на мышь	14.0 ± 1.3	24.2 ± 2.1*	24.1 ± 1.6*
Общие липиды, сыворотка, г/л	3.8 ± 0.1	2.8 ± 0.08*	2.5 ± 0.09*
Холестерин, сыворотка, ммоль/л	1.93 ± 0.45	1.48 ± 0.20	1.34 ± 0.23
Билирубин общий, сыворотка, ммоль/л	2.7 ± 0.1	2.4 ± 0.07	2.4 ± 0.07
-SHгp, сыворотка, мг%	1559 ± 83	1537 ± 40	1654 ± 36
Восстановленный глутатион, печень, мг%	150 ± 7	157 ± 9	158 ± 10
Гликоген, печень, мг%	2497 ± 94	2306 ± 197	2448 ± 194
Глюкоза, сыворотка, мг%	80 ± 9	93 ± 6	99 ± 7
Глюкоза, мышцы, мг%	124 ± 29	155 ± 40	156 ± 39
АТФ, сердце, мкмоль/г	2.2 ± 0.2	4.0 ± 0.08*	4.4 ± 0.09*
АТФ, мышцы, мкмоль/г	5.1 ± 0.2	6.8 ± 0.1*	7.1 ± 0.2*
Интенсивность тканевого дыхания, сердце, мкл O ₂ /100 мг/час	51 ± 4	74 ± 2*	80 ± 2*
Интенсивность тканевого дыхания, мышцы, мкл O ₂ /100 мг/час	18 ± 3	24 ± 1*	28 ± 2*

* — достоверные отличия от контроля при P < 0.05

Представленные результаты свидетельствуют об адаптационной направленности действия отфильтрованной воды и воды «Эвиан» («Evian»). Кроме этого, обращает на себя внимание тот факт, что мыши достоверно больше потребляли отфильтрованной и бутилированной воды.

1.8. Заключение

Проведенные исследования показали, что ежедневное месячное употребление мышами отфильтрованной воды и воды «Эвиан» («Evian») увеличивает адаптационные возможности организма, в том числе способность к антирадикальной защите.

На моделях фармакологических (гексенал) и физиологических нагрузок (радиальное ускорение, статико-силовая выносливость, динамическая работа — плавание с грузом) были продемонстрированы общие адаптогенные свойства воды: активация центральной нервной системы, улучшение вегетомоторной и психомоторной саморегуляции, увеличение физической выносливости и работоспособности экспериментальных животных.

Адаптогенные свойства отфильтрованной воды были подтверждены на модели острой гипоксии.

1.9. Литература

1. Кудрин А.Н. — Физиол. жур. СССР, 1953, т. 39, № 3, с. 309–318.
2. Васильев К.Г. — Гиг. труда и проф. забол., 1957, № 2, с. 19–24.
3. Брехман И.И. Женьшень. Л.: 1957, с. 30–33.
4. Руководство по физиологии. Адаптация человека к экстремальным условиям среды. Под ред. О.Г. Газенко. М., «Наука», 1979, с. 333–336.
5. Ellouk-Achard S. et al. Ex vivo and in vitro models in acetaminophen hepatotoxicity studies. Relationship between glutathione depletion, oxidative stress and disturbances in calcium homeostasis and energy metabolism. — Archives of Toxicology. Supplement. 1995, 17, 209–214.
6. Тимер М., Гедрих И. — Фармакология и токсикол., 1969, № 5, с. 602–604.
7. Кигель Г.Б. Харабаджахьян А.В. Показатели биологической нормы для лабораторных животных. Ростов-на-Дону, 1978, 95 с.
8. Клиническая оценка лабораторных тестов. Под ред. Н.У. Тица, М., «Медицина», 1986, 480 с.
9. Умбрейт В.В., Буррис Р.Х. и др. Монометрические методы изучения тканевого обмена. М., 1957, 356 с.
10. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник под ред. В.В. Меншикова. М., «Медицина», 1987, 365 с.

11. Рылова М.Л. Методы исследования хронического действия вредных факторов среды в эксперименте. М.: «Медицина», 1964, 228 с.
12. Руководство по физиологии. Экологическая физиология человека. Адаптация человека к экстремальным условиям среды. Под ред. О.Г.Газенко. М., «Наука», 1979, с. 333–336.
13. Руководство к практическим занятиям по патологической физиологии. Под ред. О.М. Павленко. М., «Медицина», 1974, с. 174–175.
14. Tyson C.A., Luman K.D., Stephens R.J Age-related differences in G-SH-shuttle enzymes in NO₂- or O₃-exposed rat lungs — Arch. O₃. Env. Health, 1982, Vol. 37., No 3, p. 167–176.
15. Методы исследований в профпатологии. Под ред. О.Г. Архиповой. М., 1988, с. 156–158.
16. Современные методы в биохимии. Под ред. В.Н. Ореховича. М., «Медицина», 1977, с. 62–64.

2. ПОКАЗАТЕЛИ АКТИВНОСТИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС ПРИ УПОТРЕБЛЕНИИ ОТФИЛЬТРОВАННОЙ ВОДЫ

В данном эксперименте изучалось состояние нервной системы по методу «открытого поля» через месяц после свободного спаивания крысам-самцам исследуемых вод. При этом оценивалась интегральная активность в условиях свободного поведения [1]. Белые нелинейные крысы-самцы массой 160–180 г в возрасте 13–14 недель поступили из питомника РАМН «Рапполово», Ленинградская область.

Результаты изучения двигательной активности крыс представлены в таблице 7.

Таблица 7

Показатели поведенческих реакций белых крыс по методу «открытого поля» (регистрация в течение 5 минут)

Группа, n=6	Горизонтальная активность	Вертикальная активность	Норковый рефлекс	Латентный период, секунд	Интегральная активность
Контроль (водопроводная вода)	36±1	13±3	5±1	2.8±0.2	68±4
«Эвиан» («Evian»)	37±3	16±2	10±1*	1.3±0.1*	75±3
Отфильтрованная вода	38±2	19±3	11±1*	1.2±0.2*	78±5

* — достоверные отличия от контроля при $P < 0.05$

Данные опыта свидетельствуют о том, что отфильтрованная вода и вода «Эвиан» («Evian») повышают активность животных за счет вертикальной активности, норкового рефлекса (исследовательской деятельности) и уменьшения латентного периода.

2.1. Литература

1. Буреш Я., Бурешова О., Дж.П. Хьюстон. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М., Высшая школа, 1991, 450 с.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные экспериментальные исследования показали, что профилактическое употребление очищенной с помощью установок типа «Золотая Формула ZF-5» (ТУ 3697-001-96144318-2008) водопроводной воды повышает адаптационные возможности организма животных.

У животных на фоне употребления очищенной воды повышаются физическая работоспособность и выносливость, устойчивость к гипоксии. Это связано с улучшением метаболических процессов в организме, снижением уровня продуктов перекисного окисления липидов, активацией процессов тканевого дыхания и увеличением запасов внутриклеточной энергии (АТФ). Кроме этого, увеличивается активность антирадикальных систем организма, что положительно сказывается на регенераторной активности клеток. Вероятно, эти свойства воды обусловлены ее чистотой и отсутствием в ней вредных и опасных для организма органических и неорганических загрязнителей. Это подтверждается тем, что чистая натуральная минеральная столовая негазированная вода «Эвиан» («Evian») обладает такими же свойствами, но в меньшей степени, чем вода очищенная с помощью установок «Золотая Формула ZF – 5».

Полученные результаты позволяют рекомендовать очищенную воду с помощью установок типа «Золотая Формула ZF-5» (ТУ 3697-001-96144318-2008) на основе УСВР производства ООО «Холдинг «Золотая Формула» (г. Всеволожск, Ленинградская область, ул. Достоевского, д. 32/53) для использования в качестве профилактической столовой воды.