

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина»
(ФГБОУ ВО Омский ГАУ)

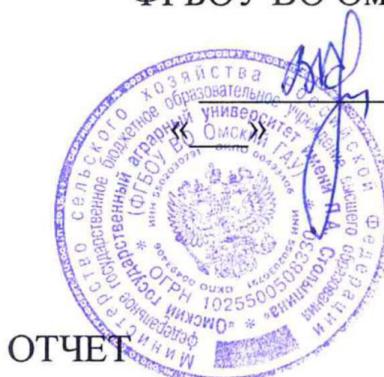
УДК577:57.08

Инв. № _____

УТВЕРЖДАЮ

И.о. проректора по научной работе
ФГБОУ ВО Омский ГАУ

В.Н. Кумпан
2021 г.



ОТЧЕТ

О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

«ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ HAS WATER НА
БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ В ТЕСТАХ IN VITRO»

заключительный

(Договор №20-06/2021 от 02.06. 2021 г.)

Руководитель: д-р ветеринар. наук, доц.



Бойко Т.В.

Омск – 2021

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель темы,
д-р ветеринар.наук, доцент,
зав.кафедрой диагностики,
внутренних незаразных
болезней, фармакологии,
хирургии и акушерства



Т. В. Бойко
(введение,
заключение, раздел
1.1; 1.3; 1.4; 1.5)

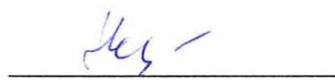
Исполнители темы:

канд. ветеринар. наук, ст.
преподаватель, старший
преподаватель кафедры
ветеринарно-санитарной
экспертизы продуктов
животноводства и гигиены
сельскохозяйственных животных



Е. В. Корниенко
(раздел 1.2)

Нормоконтроль



Н. К. Николаева

РЕФЕРАТ

Отчет 46 с., 21 рис., 14 табл., 5 источн.

ВОДА HAS WATER, БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ, СТИЛОННИХИИ, БИОТЕСТИРОВАНИЕ, КРЕСС-САЛАТ, МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ, ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования является вода HAS WATER.

Цель работы - исследование воды HAS WATER на соответствие требованиям нормативных документов по критериям, представленным в ТР ЕАЭС 044/2017; изучение влияния воды HAS WATER на биологические объекты в тестах *in vitro*.

В ходе работы проводили лабораторные экспериментальные методы исследования. При обработке и обобщении информации, полученной при выполнении НИР, использовали графические методы – построение таблиц и диаграмм. Статистическую обработку полученных результатов выполняли на персональном компьютере Zalman в операционной системе Windows 10. Для статистических расчетов использовали пакет программы STATISTICA7,0.

Впервые проведены исследования воды HAS WATER на соответствие требованиям Технического регламента Евразийского экономического союза «О безопасности упакованной питьевой воды, включая природную минеральную воду» (ТР ЕАЭС 044/2017), а также экспериментальная оценка влияния воды HAS WATER на биологические объекты в тестах *in vitro*.

На основании проведенных исследований установлено, что вода HAS WATER по исследуемым показателям соответствует требованиям Технического регламента Евразийского экономического союза «О безопасности упакованной питьевой воды, включая природную минеральную воду» (ТР ЕАЭС 044/2017); в тестах с использованием гидробионтов, семян растений и микроскопических грибов установлено положительное биологическое действие воды HAS WATER, позволяющее планировать исследования на лабораторных животных.

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|---|----|
| Введение | 5 |
| 1 Результаты собственных исследований | 6 |
| 1.1 Материалы и методы | 6 |
| 1.2 Оценка безопасности воды HAS WATER на соответствие требованиям ТР ЕАЭС 044/2017 | 10 |
| 1.3 Оценка общей токсичности воды HAS WATER экспресс-методом на простейших рода брюхоресничных инфузорий <i>Stylonychia mytilus</i> | 14 |
| 1.4 Оценка влияния воды HAS WATER при проращивании тест-растений . | 20 |
| 1.5 Результаты исследования влияния воды HAS WATER на рост мицелиальных грибов | 28 |
| Заключение | 45 |
| Список использованных источников | 46 |

ВВЕДЕНИЕ

Удовлетворение потребности населения и промышленности в чистой воде является важной задачей во всем мире. Проблема антропогенного загрязнения природных источников воды диктует необходимость поиска альтернативных методов очистки уже используемой воды. В связи с этим разработка новых технологий очистки воды, направленных на улучшение ее качества является актуальной задачей для всего человечества, при этом особый интерес представляет вода, активированная электрохимическим путем, уникальные реакции которой необходимо изучать, используя общепринятые в экспериментальной биологии и фармакологии модели исследования.

1 Результаты собственных исследований.

1.1 Материалы и методы

Объекты исследования: вода HAS WATER, полученная специальным образом и доставленная в течение часа – вода HAS WATER свежеприготовленная; вода HAS WATER после хранения при комнатной температуре в течение 5 суток; вода HAS WATER после хранения в холодильной камере в течение 5 суток (рис. 1).



Рисунок1 – Проба воды HAS WATER

Оценку безопасности воды HAS WATER на соответствие требованиям ТР ЕАЭС 044/2017 в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Омской области» (договор на оказание услуг №7871 ГП от 05.07.2021 г.) стандартными методами по следующим показателям:

- водородный показатель, pH потенциометрическим методом;
- запах, 20° С, 60 ° С органолептическим методом;
- мутность фотометрическим методом;
- привкус органолептическим методом;
- цветность фотометрическим методом;

- сухой остаток гравиметрическим методом;
- массовые концентрации хлорид-ионов/хлоридов, нитрит-ионов/нитритов, сульфат-ионов/сульфатов, нитрат-ионов/нитратов, фторид-ионов/фторидов и фосфат-ионов/фосфатов методом капиллярного электрофореза;
- алюминий фотометрическим методом;
- массовая концентрация бария/ барий методом AAC;
- массовая концентрация общего железа/ железо в воде фотометрическим методом;
- массовая концентрация кобальта/ кобальт методом AAC;
- массовая концентрация лития/литий методом AAC;
- массовая концентрация марганца/ марганец методом AAC;
- массовая концентрация молибдена/ молибден методом AAC;
- массовая концентрация натрия/ натрий методом AAC;
- массовая концентрация никеля/ никель методом AAC;
- общее содержание ртути методом AAC;
- массовая концентрация селена/ селен методом AAC;
- массовую концентрацию серебра/ серебро методом AAC;
- массовая концентрация стронция/ стронций методом AAC;
- массовую концентрацию сурьмы/ сурьма методом AAC ;
- определение хрома общего фотометрическим методом;
- определение массовых концентраций цинка, меди, свинца, кадмия методом ИВА;
- озон остаточный титrimетрическим методом;
- определение 1,2 дихлорэтана, хлороформа, четыреххлористого углерода, бromoформа, тетрахлорэтилена, трихлорэтилена, дибромхлорметана, бромдихлорметана газохроматографическим методом;
- хлор суммарный титrimетрическим методом;
- жесткость титrimетрическим методом;

- показатели безопасности упакованной HAS WATER воды (бутилированной): ОМЧ, *Escherichia coli*, БГКП, энтерококки (фекальные стрептококки), *Pseudomonas aeruginosa*, споры сульфатредуцирующие клоストридии бактериологическим методом;
- суммарная альфа-активность радиометрическим методом;
- суммарная бета-активность радиометрическим методом;
- расчет комплексных показателей токсичности по сумме нитрита и нитрата;
- расчет комплексных показателей токсичности по сумме тригалометанов;
- массовая концентрация мышьяка методом ААС.

Токсикологическую оценку воды HAS WATER осуществляли экспресс-методом на культуре простейших рода брюхоресничных инфузорий *Styloynchiamytilus*. Для этого в лунки планшета вносили по 20 мкл среды Лодзинского со стилонихиями, проводили подсчет их количества, затем добавляли 20 мкл исследуемой воды HAS WATER, через 5 минут проводили предварительный просмотр и подсчет количества живых инфузорий. Планшет с исследуемым материалом помещали в термостат и экспонировали в течение 3-х часов при температуре 21°C. Затем подсчитывали количество живых стилонихий, определяли процент их гибели. В дальнейшем изучали характер токсичности воды HAS WATER при постоянном воздействии на стилонихии путем их пересева в воду HAS WATER при разных режимах ее хранения. Учет простейших осуществляли на 3 сутки после пересева. Опыты проводили в 5-ти повторностях, группы сравнения – стилонихии в дистиллированной воде и среде Лозе-Лозинского [1].

Оценку ростостимулирующих свойств воды проводили методом биотестирования путем определения скорости прорастивания семян кress-салата в течение 14 дней, в 3-х повторностях при контролируемых условиях. Показатели для оценки: энергия прорастания, процент всхожести семян, длина корешка проростков, длина побега, масса проростков. Группа сравнения – вода дистиллированная [2]. Данный вид биотестирования

относится к кратковременному (проращивание семян сельскохозяйственных культур в течение 72 часов) и позволяет определить острое токсическое действие исследуемых вод на развитие проростков растений. Показателем является средняя длина развития корневой системы в тестируемой воде по сравнению с контролем. Исследования проводили в учебно-научной лаборатории ветеринарной фармакологии и токсикологии кафедры диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства при температуре в помещении 23 °С. Закладка опытов проводилась в трехкратной повторности.

Оценку влияния воды HAS WATER на рост некоторых микроскопических грибов родов *Aspergillus*, *Penicilium*, *Fusarium*, *Mucor*, а также водных грибов рода *Acetobacter* и *Sacharomicetis* проводили стандартными методами, принятыми в микологии [3]. Видовую идентификацию микроскопических (плесневых) грибов осуществляли по морфологическим признакам с использованием стандартных определителей [4].

Статистическую обработку полученных результатов выполняли на персональном компьютере Zalman в операционной системе Windows 10. Для статистических расчетов использовали пакет программы STATISTICA 7,0. Цифровой материал представлен в виде медианы (Me) и quartилей ($Q_{25}; Q_{75}$), для сравнения средних значений двух независимых выборок использовали непараметрический U-критерий Mann–Whitney. Разница между сравниваемыми величинами считалась достоверной при $p \leq 0,05$.

1.2 Оценка безопасности воды HAS WATER на соответствие требованиям

ТР ЕАЭС 044/2017

Оценку безопасности воды HAS WATER на соответствие требованиям ТР ЕАЭС 044/2017 проводили с целью выявления возможного недопустимого риска, связанного с возможностью причинения вреда и (или) нанесения ущерба при употреблении данной воды.

К числу показателей химической безопасности, нормируемых в воде в соответствии с ТР ЕАЭС 044/2017 относятся органолептические показатели, показатели солевого и газового состава, токсичные металлы и неметаллические элементы, показатели органического загрязнения, галогены.

Результаты органолептических исследований воды представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Органолептические показатели воды HAS WATER на их соответствие требованиям ТР ЕАЭС 044/2017

| Наименование показателя | Заключение о соответствии требованиям ТР ЕАЭС 044/2017 |
|---|--|
| 1 Запах при температуре 20 °C | соответствует |
| 2 Запах при нагревании до 60°C | соответствует |
| 3 Привкус | соответствует |
| 4 Водородный показатель, pH, определяемый потенциометрическим методом | соответствует |
| 5 Мутность, определяемая фотометрическим методом | соответствует |
| 6 Цветность, определяемая фотометрическим методом | соответствует |

При органолептической оценке качества воды по показателям запаха при температуре 20 °C и 60 °C и определении привкусов, отклонений от требований ТР ЕАЭС 044/2017 не обнаружено.

Результаты определения физико-химических показателей представлены в

таблице 2.

Таблица 2 – Физико-химические показатели воды HAS WATER в соответствии с требованиями ТР ЕАЭС 044/2017

| Наименование показателя и метод его определения | Заключение о соответствии требованиям ТР ЕАЭС 044/2017 |
|--|--|
| 1 Жесткость общая, определяемая титриметрическим методом | соответствует |
| 2 Сухой остаток, определяемый гравиметрическим методом | соответствует |
| 3 Хлориды методом капиллярного электрофореза | соответствует |
| 4 Нитраты методом капиллярного электрофореза | соответствует |
| 5 Нитриты методом капиллярного электрофореза | соответствует |
| 6 Сульфаты методом капиллярного электрофореза | соответствует |
| 7 Фториды методом капиллярного электрофореза | соответствует |
| 8 Фосфаты методом капиллярного электрофореза | соответствует |
| 9 Алюминий фотометрическим методом | соответствует |
| 10 Барий, определяемый методом AAC | соответствует |
| 11 Железо, определяемое фотометрическим методом | соответствует |
| 12 Кобальт, определяемый методом AAC | соответствует |
| 13 Литий, определяемый методом AAC | соответствует |
| 14 Марганец методом AAC | соответствует |
| 15 Молибден в воде питьевой методом AAC | соответствует |
| 16 Натрий, массовая концентрация, определяемая методом AAC | соответствует |
| 17 Никель, определяемый методом AAC | соответствует |
| 18 Ртуть, определяемая методом AAC | соответствует |
| 19 Селен, определяемый методом AAC | соответствует |
| 20 Серебро, определяемое методом AAC | соответствует |
| 21 Стронций, определяемый методом AAC | соответствует |
| 22 Сурьма в воде питьевой методом AAC | соответствует |
| 23 Мышьяк, определяемый методом AAC. | соответствует |
| 24 Цинк, определяемая методом ИВА | соответствует |
| 25 Медь, определяемая методом ИВА | соответствует |
| 26 Свинец, определяемый методом ИВА | соответствует |
| 27 Кадмий, определяемый методом ИВА | соответствует |
| 28 Хром общий, определяемый фотометрическим методом; | соответствует |

Окончание таблицы 2

| | |
|--|---------------|
| 29 Озон остаточный, определяемый титриметрическим методом | соответствует |
| 30 Хлор суммарный, определяемый титриметрическим методом | соответствует |
| 31 Комплексный показатель токсичности по сумме нитритов и нитратов | соответствует |

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что все вышеперечисленные физико-химические показатели воды HAS WATER соответствуют требованиям ТР ЕАЭС 044/2017.

Определение микробиологических показателей безопасности воды HAS WATER проводилось бактериологическим методом путем определения общего микробного числа (ОМЧ), *Escherihiacoli* (*E. Coli*), *Pseudomonasaeruginosa*, энтерококков (фекальных стрептококков), бактерий группы кишечных палочек (БГКП), спор сульфитредуцирующихклостридий, как санитарно-показательных микроорганизмов. Результаты бактериологических исследований представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Определение показателей микробиологической безопасности воды HAS WATER на их соответствие требованиям ТР ЕАЭС 044/2017

| Наименование показателя | Заключение о соответствии требованиям ТР ЕАЭС 044/2017 |
|--|--|
| ОМЧ | соответствует |
| <i>Escherichiacoli</i> | соответствует |
| БГКП | соответствует |
| Энтерококки (фекальные стрептококки) | соответствует |
| <i>Pseudomonasaeruginosa</i> | соответствует |
| Споры сульфитредуцирующихклостридий | соответствует |

По результатам проведенных микробиологических испытаний можно сделать вывод о соответствии микробиологических показателей воды HAS WATER требованиям ТР ЕАЭС 044/2017.

Для оценки показателей радиационной безопасности было проведено определение показателей удельной суммарной альфа-активности и бета-активности исследуемой воды HAS WATER радиометрическим методом. Результаты исследований приведены в таблице 4.

Таблица 4 - Определение показателей радиационной безопасности воды HAS WATER их соответствие требованиям ТР ЕАЭС 044/2017

| Наименование показателя | Заключение о соответствии требованиям ТР ЕАЭС 044/2017 |
|----------------------------|--|
| Суммарная альфа-активность | соответствует |
| Суммарная бета-активность | соответствует |

Результаты радиологических исследований демонстрируют, что показатели радиационной безопасности HAS WATER соответствуют требованиям ТР ЕАЭС 044/2017.

По сумме исследований критериев химической, микробиологической и радиологической безопасности можно сделать вывод, что вода HAS WATER по исследуемым показателям соответствует требованиям Технического регламента Евразийского экономического союза «О безопасности упакованной питьевой воды, включая природную минеральную воду» (ТР ЕАЭС 044/2017).

1.3 Оценка общей токсичности воды HAS WATER экспресс-методом на культуре простейших рода брюхоресничных инфузорий *Stylonychia mytilus*

Общую токсичность воды HAS WATER осуществляли экспресс-методом на культуре простейших рода брюхоресничных инфузорий *Stylonychia mytilus* (тест-организм), руководствуясь методикой, изложенной в ГОСТ Р 57166-2016. «Вода. Определение токсичности по выживаемости пресноводных инфузорий *Paramecium caudatum Ehrenberg» [1].* Данный метод биотестирования является качественным, сущность которого заключается в регистрации выживаемости тест-организмов *Stylonychia mytilus* в анализируемой пробе исследуемого объекта относительно контрольной пробы, определении ее токсичности при тестировании 3 или 72 ч.

В лунки планшета вносили по 20 мкл среды со стилонихиями, проводили подсчет их количества, затем добавляли 20 мкл исследуемой пробы воды HAS WATER, спустя 5 минут производили предварительный просмотр и подсчет количества живых инфузорий. Планшет с исследуемым материалом оставляли в комнате с температурой 23 °С в течение трех суток. Подсчет количества живых тест-организмов *Stylonychia mytilus* осуществляли через 3 часа, определяя процент их гибели (рис. 2).

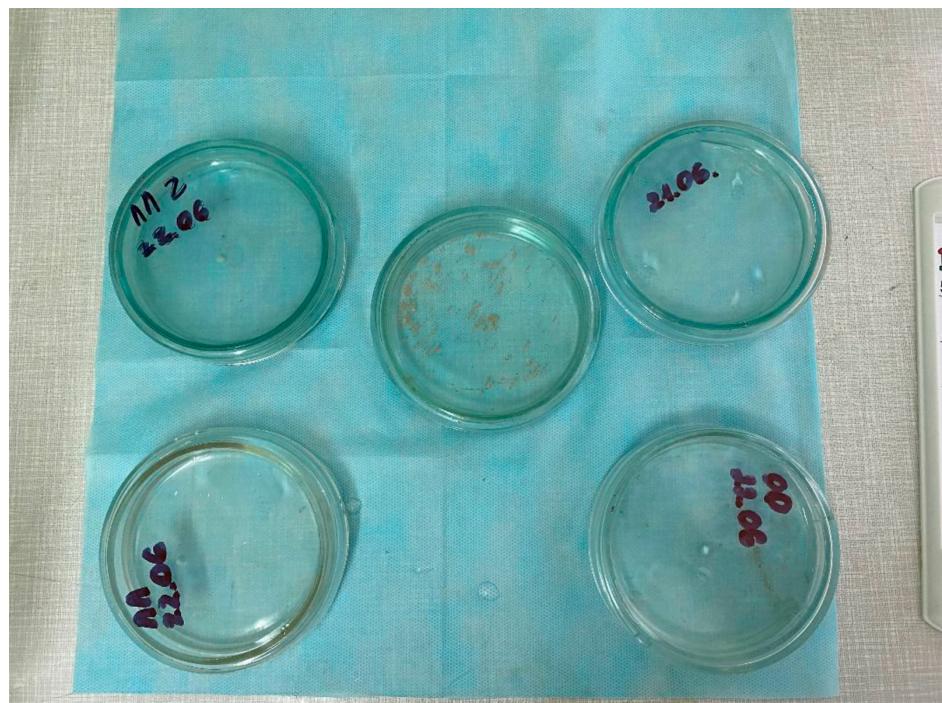


Рисунок 2 – Общий вид чашек Петри со стилюнихиями.

Учет тест-организмов *Styloynchiamytilus* проводили в 6 полях зрения микроскопа. Учет вели инфузорий всех размеров, подразделяя на крупных (способных к делению), среднего и малого размера - растущие особи (рис. 3, 4).

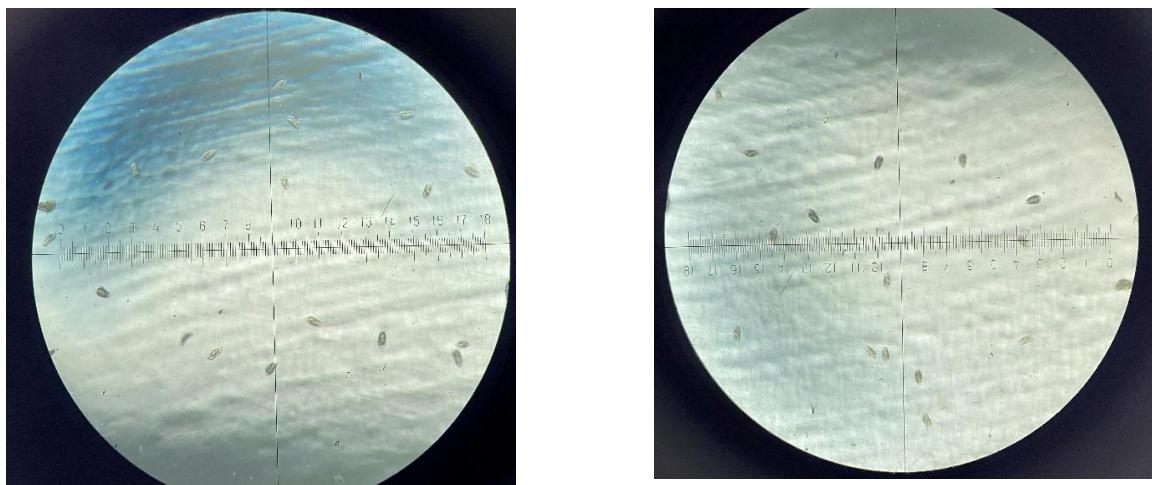


Рисунок 3– Инфузории стилюнихии *Styloynchiamytilus*. Ув. \times 200.

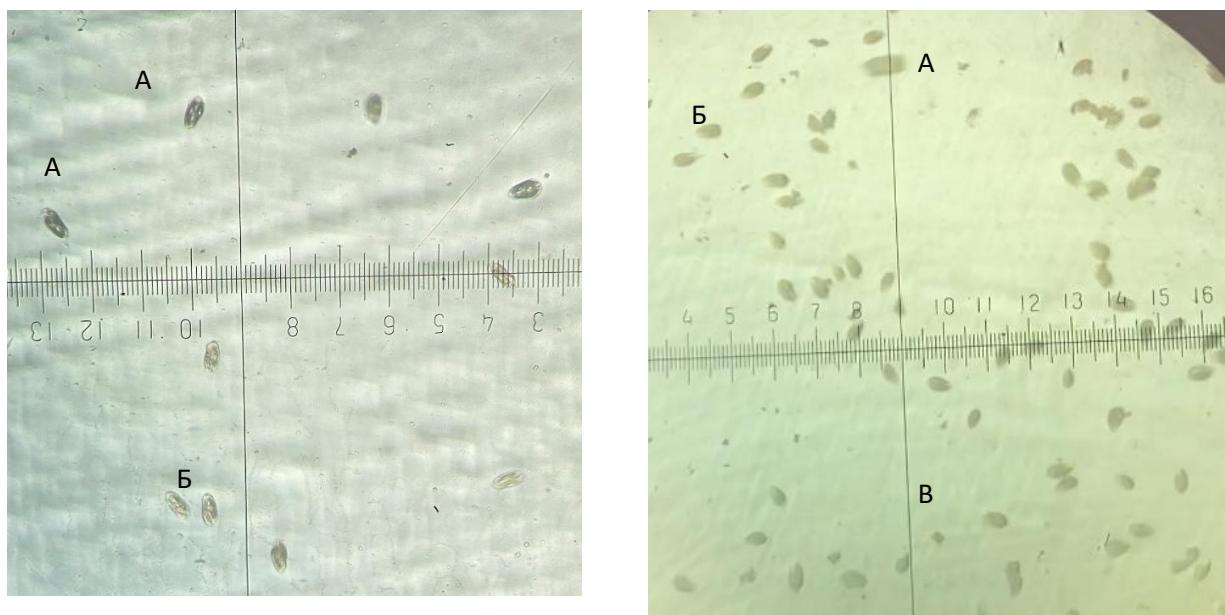


Рисунок 4 – Инфузории стилонихии *Stylonychia mytilus* (А – крупные особи готовые к делению, Б – особи среднего размера, мелкие (растущие). Ув.×200.

Так как через 6 часов гибели стилонихий не регистрировали ни в одной опытной пробе, выживаемость тест-организмов *Stylonychia mytilus* после экспозиции с водой HAS WATER составила 100 %. В следующих сериях изучали характер токсичности различных проб воды HAS WATER в зависимости от сроков инкубации тест-организмов в условиях *invitro* при 23 °C в течение 72 ч, через каждые 24 ч осуществляя подсчет их количества. Опыты проводили в 5-ти повторностях (табл.5).

Таблица 5 – Процент гибели *Stylonychia mytilus* при экспозиции с водой HAS WATER, %

| Срок инкубации стилонихий, ч | Повторности, шт | | | | | <i>Me (Q₂₅; Q₇₅)</i> |
|---|-----------------|---|---|---|---|--|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| <i>Среда Лозино-Лозинского (Контроль)</i> | | | | | | |
| 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 48 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 72 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Вода HAS WATER свежеприготовленная</i> | | | | | | |
| 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 48 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 72 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Окончание таблицы 5

| <i>Вода HAS WATER, хранение в течение 5 суток при комнатной температуре</i> | | | | | | |
|--|---|---|---|---|---|---|
| 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 48 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 72 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Вода HAS WATER, хранение в течение 5 суток в морозильной камере</i> | | | | | | |
| 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 48 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 72 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Вода HAS WATER свежеприготовленная, проба 2</i> | | | | | | |
| 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 48 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 72 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Результаты исследований показывают, что продолжительность экспонирования испытуемой воды в течение 72 часов не оказывает негативного (угнетающего) влияния на тест-организмы, гибели инфузорий *Stylonychia mytilus* не отмечали ни в одной из проб испытуемой воды (табл. 5).

В связи с тем, что употребление воды HAS WATER предполагается человеком в течение длительного времени, было проведено исследование ее влияния на стилонихий при постоянном воздействии с пересевом инфузорий на третьи сутки в аналогичную пробу воды. С каждой пробой воды было проведено 5 пересевов.

Результаты исследования, представленные в таблице 6, свидетельствуют об отсутствии токсического эффекта воды HAS WATER при длительном ее воздействии на инфузории *Stylonychia mytilus*. Коэффициент прироста стилонихий не имел достоверных отличий от группы контроля во всех испытуемых пробах воды, что свидетельствует о сохранении способности к делению простейших даже при 5-ти кратном пересеве тест-организмов (табл.6). При этом патологических форм инфузорий, а также изменений в их поведении, зарегистрировано не было.

Таблица 6 - Выживаемость инфузорий *Styloynchiamytilus* после экспонирования в течение 3 суток при 5-ти кратном пересеве культуры инфузорий *Styloynchiamytilus*

| Серия | Кол-во стилюнхий на начало эксперимента | | | | | | Кол-во стилюнхий через 3 суток культивирования в HAS WATER | | | | | | Коэффициент прироста | | | | | |
|---|---|--------------|----------------|------------------|--------------|----------------|---|--------------|----------------|--------------|--------------|----------------|---------------------------|------|------|--|--|--|
| | Размер стилюнхий | | | Размер стилюнхий | | | | | | | | | | | | | | |
| | Всего | Малые | Крупные | Всего | Малые | Крупные | Всего | Малые | Крупные | Всего | Малые | Крупные | | | | | | |
| <i>Среда Лозино-Лозинского (Контроль)</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| № п/п | шт | % | шт | % | шт | % | шт | % | шт | % | шт | % | шт | шт | шт | | | |
| 1 | 42 | 100 | 4,0 | 100 | 38,0 | 100 | 31,0 | 74 | 20,0 | 500 | 11,0 | 29 | 0,73 | 5 | 0,3 | | | |
| 2 | 26 | 100 | 21,0 | 100 | 5,0 | 100 | 35,0 | 134 | 29,0 | 138 | 6,0 | 120 | 1,34 | 1,6 | 1,2 | | | |
| 3 | 19 | 100 | 16,0 | 100 | 3,0 | 100 | 16,0 | 84,2 | 15,0 | 93,8 | 1,0 | 33,3 | 0,8 | 0,9 | 0,3 | | | |
| 4 | 16 | 100 | 12,0 | 100 | 4,0 | 100 | 20,0 | 125 | 3,0 | 25 | 17,0 | 425 | 1,25 | 0,25 | 4,25 | | | |
| 5 | 20 | 100 | 8,0 | 100 | 12,0 | 100 | 50,0 | 250 | 42,0 | 525 | 8,0 | 66,6 | 2,25 | 5,25 | 0,7 | | | |
| Ме (Q ₂₅ ;Q ₇₅) | | | | | | | | | | | | | 1,25 (0,8;1,34) | | | | | |
| <i>Вода HAS WATER свежеприготовленная</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 13 | 100 | 10 | 100 | 3 | 100 | 34 | 262 | 30 | 300 | 4 | 133 | 2,6 | 3 | 1,3 | | | |
| 2 | 39 | 100 | 36 | 100 | 3 | 100 | 45 | 115 | 5 | 14 | 40 | 1333 | 1,2 | 0,10 | 26,7 | | | |
| 3 | 21 | 100 | 14 | 100 | 7 | 100 | 17 | 81 | 16 | 114 | 1 | 14 | 0,8 | 1,14 | 0,14 | | | |
| 4 | 16 | 100 | 13 | 100 | 3 | 100 | 12 | 75 | 12 | 92 | 4 | 133 | 0,75 | 0,9 | 1,3 | | | |
| 5 | 20 | 100 | 15 | 100 | 5 | 100 | 24 | 120 | 18 | 120 | 6 | 120 | 1,2 | 1,2 | 1,2 | | | |
| Ме (Q ₂₅ ;Q ₇₅) | | | | | | | | | | | | | 1,2 (0,8; 1,2) | | | | | |
| P | | | | | | | | | | | | | 0,834 | | | | | |
| <i>Вода HAS WATER, хранение в течение 5 суток при комнатной температуре</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 14 | 100 | 11 | 100 | 3 | 100 | 19 | 136 | 6 | 55 | 13 | 68 | 1,4 | 0,5 | 4,3 | | | |
| 2 | 11 | 100 | 9 | 100 | 2 | 100 | 31 | 281 | 27 | 300 | 4 | 200 | 2,8 | 3 | 2 | | | |
| 3 | 11 | 100 | 9 | 100 | 2 | 100 | 24 | 218 | 20 | 22 | 4 | 200 | 2,2 | 0,4 | 2 | | | |
| 4 | 16 | 100 | 10 | 100 | 6 | 100 | 26 | 163 | 18 | 180 | 8 | 133 | 1,6 | 1,8 | 1,3 | | | |
| 5 | 12 | 100 | 8 | 100 | 4 | 100 | 20 | 167 | 17 | 213 | 3 | 75 | 1,7 | 2,1 | 0,75 | | | |

Окончание таблицы 6

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|-----------|-----|-----------|-----|----------|-----|-----------|-----|-----------|------|----------|-----|--------------------------|-----|------|
| Me (Q₂₅;Q₇₅) | | | | | | | | | | | | | 1,7 (1,6;2,2) | | |
| P | | | | | | | | | | | | | 0,07 | | |
| <i>Вода HAS WATER, хранение в течение 5 суток в морозильной камере</i> | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 43 | 100 | 42 | 100 | 1 | 100 | 45 | 105 | 40 | 95,2 | 5 | 500 | 1,0 | 1,0 | 5,0 |
| 2 | 36 | 100 | 30 | 100 | 6 | 100 | 34 | 94 | 28 | 93 | 6 | 100 | 0,9 | 0,9 | 1,0 |
| 3 | 28 | 100 | 24 | 100 | 4 | 100 | 30 | 107 | 33 | 138 | 7 | 175 | 1,1 | 1,4 | 1,75 |
| 4 | 30 | 100 | 26 | 100 | 4 | 100 | 36 | 120 | 34 | 131 | 2 | 50 | 1,2 | 1,4 | 0,5 |
| 5 | 24 | 100 | 21 | 100 | 3 | 100 | 26 | 108 | 20 | 95 | 6 | 200 | 1,1 | 1,0 | 2,0 |
| Me (Q₂₅;Q₇₅) | | | | | | | | | | | | | 1,1 (1,0:1,1) | | |
| P | | | | | | | | | | | | | 0,6 | | |
| <i>Вода HAS WATER свежеприготовленная, проба 2</i> | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 36 | 100 | 34 | 100 | 2 | 100 | 35 | 97 | 31 | 91 | 4 | 200 | 0,97 | 0,9 | 2 |
| 2 | 25 | 100 | 22 | 100 | 3 | 100 | 27 | 108 | 24 | 109 | 3 | 100 | 1,1 | 1,1 | 1 |
| 3 | 23 | 100 | 22 | 100 | 1 | 100 | 28 | 122 | 24 | 109 | 3 | 300 | 1,2 | 1,1 | 3 |
| 4 | 20 | 100 | 17 | 100 | 3 | 100 | 16 | 80 | 14 | 82 | 2 | 67 | 0,8 | 0,8 | 0,7 |
| 5 | 18 | 100 | 14 | 100 | 4 | 100 | 20 | 111 | 15 | 107 | 5 | 125 | 1,1 | 1,1 | 1,3 |
| Me (Q₂₅;Q₇₅) | | | | | | | | | | | | | 1,1 (0,97;1,1) | | |
| P | | | | | | | | | | | | | 0,53 | | |

Таким образом, вода HAS WATER по степени токсичности проб природной и питьевой воды относится к нетоксичной в teste на инфузориях *Stylonychia mytilus*. При пятикратном пересеве тест-организмов в испытуемых пробах воды коэффициент прироста составлял от 1,1 до 1,7 раза в зависимости от условий хранения испытуемой воды.

1.4 Оценка влияния воды HAS WATER при проращивании тест-растений

Фитотест основан на способности семян адекватно реагировать на экзогенное воздействие путем изменения интенсивности прорастания корней, что позволяет длину последних принять за тест-функцию. Критерием токсического действия считали ингибирование (угнетение) роста корней семян и, наоборот, положительным эффектом – ростостимулирующее действие воды HAS WATER. Тест-растениями являлись семена кресс-салата *Lepidium sativum L* агрофирмы Аэлита (рис.5).



Рисунок 5– Семена кресс-салата (*Lepidium sativum L*) весеннего.
Внешний вид упаковки.

Перед закладкой опытов проводили подготовку семян, которая включала: выбор неповрежденных, одинакового размера семян, замачивание на несколько

минут в дистиллированной воде для отбраковки всплывших семян. Далее в чашки Петри помещали диски фильтровальной бумаги диаметром 9 см, на которые раскладывали по 30 семян *Lepidium sativum L* в каждую чашку. Затем наливали по 2 мл исследуемых проб воды. В качестве контроля использовали дистиллированную воду. Чашки закрывали, семена проращивали при дневном освещении без попадания прямых солнечных лучей на лабораторном столе при комнатной температуре 23 °C (рис. 6). Закладка опытов проводилась в трехкратной повторности.

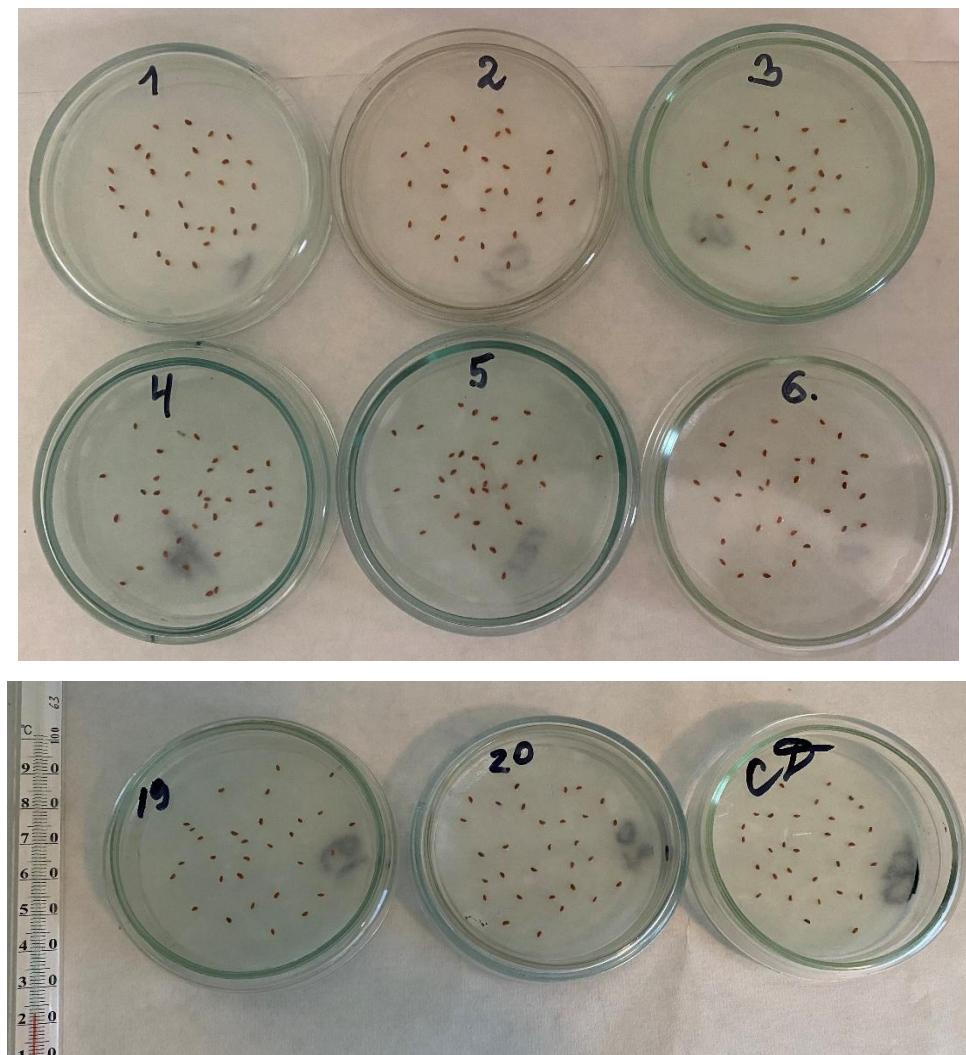
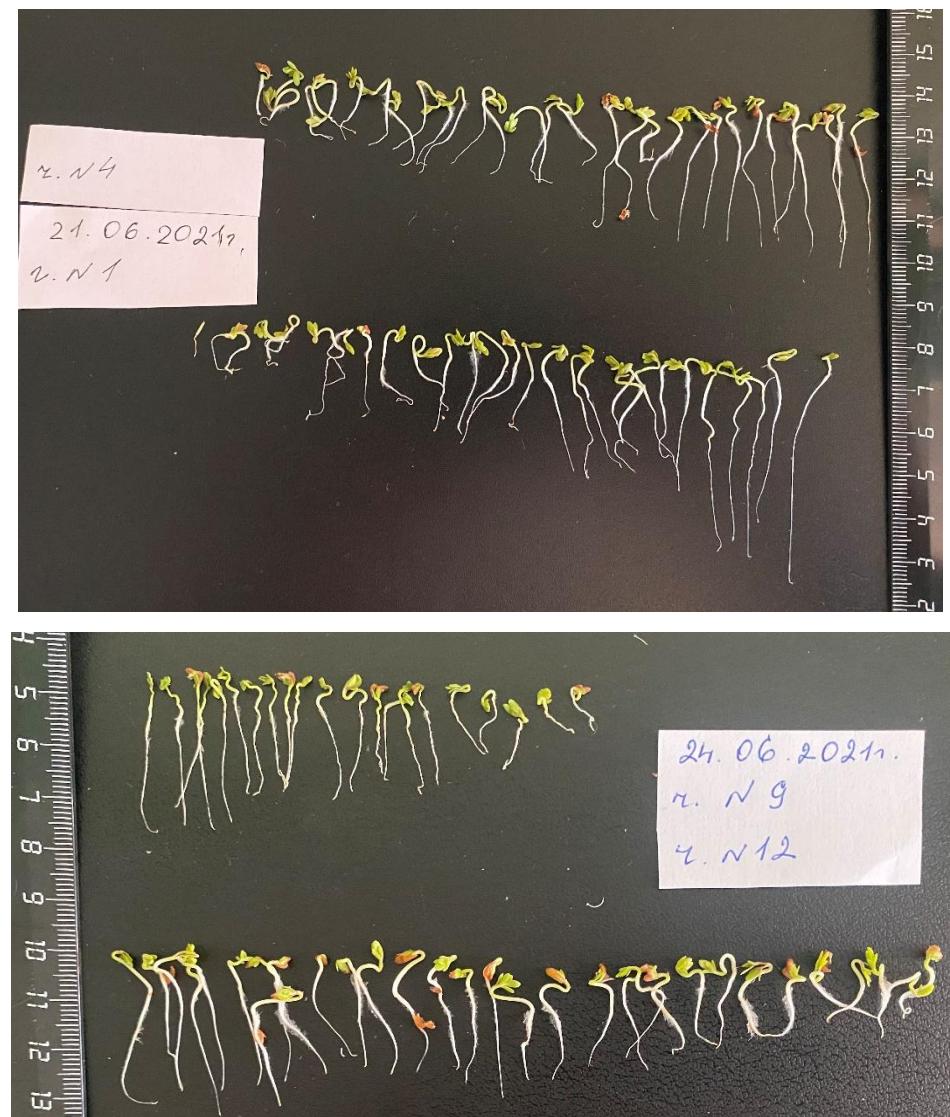


Рисунок 6 – Общий вид раскладки семян кress-салата (*Lepidium sativum L*) весеннего в чашках Петри.

Через сутки регистрировали количество проросших семян. На 3 сутки проводили измерения длин корней, анализируя изменения (ингибирование или

стимулирование) при развитии корневой системы по сравнению с контролем является основной тест-реакцией растения на наличие в воде токсических или стимулирующих веществ. Снижение длины корней проростков семян в исследуемых пробах воды по сравнению с контролем, принятым за 100 %, являлось показателем токсичности проб воды (рис. 7).





*Рисунок 7 – Раскладка и внешний вид проростков семян кресс-салата (*Lepidium sativum L.*) весеннего на 3 сутки.*

Результаты исследования представлены в таблице 7 и на рисунках 8 и 9.

Таблица 7 – Результаты влияния воды HAS WATER на тест-растение *Lepidium sativum L*

| № пробы | Длина основного корня, шт | | | Проросших семян, шт | Масса, г |
|------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| | > 5 см | 3-5 см | 0-3 см | | |
| 1 | 3,0 | 10,0 | 15,0 | 28,0 | 0,367 |
| 2 | 7,0 | 14,0 | 7,0 | 28,0 | 0,371 |
| 7 | 0,0 | 10,0 | 18,0 | 28,0 | 0,361 |
| 8 | 0,0 | 8,0 | 22,0 | 30,0 | 0,379 |
| 9 | 0,0 | 5,0 | 16,0 | 21,0 | 0,343 |
| 13 | 3,0 | 10,0 | 14,0 | 27,0 | 0,370 |
| 14 | 5,0 | 9,0 | 15,0 | 29,0 | 0,368 |
| 15 | 4,0 | 9,0 | 17,0 | 30,0 | 0,380 |
| 23 | 9,0 | 11,0 | 9,0 | 29,0 | 0,551 |
| 26 | 6,0 | 12,0 | 9,0 | 27,0 | 0,510 |
| 33 | 17,0 | 5,0 | 8,0 | 30,0 | 0,526 |
| 35 | 7,0 | 5,0 | 18,0 | 30,0 | 0,36 |
| 42 | 18,0 | 8,0 | 4,0 | 30,0 | 0,565 |
| 47 | 15,0 | 5,0 | 10,0 | 30,0 | 0,495 |
| Ме (P25; P75) | 5,5 (3,0; 9,0) | 9,0 (5,0; 10,0) | 14,5 (9,0; 17,0) | 29,0 (28,0; 30,0) | 0,380 (0,367; 0,510) |

Продолжение таблицы 7

| Вода HAS WATER свежеприготовленная | | | | | |
|---|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| 4 | 10,0 | 15,0 | 5,0 | 30,0 | 0,510 |
| 5 | 8,0 | 15,0 | 5,0 | 28,0 | 0,480 |
| 10 | 10,0 | 8,0 | 11,0 | 29,0 | 0,495 |
| 11 | 10,0 | 13,0 | 7,0 | 30,0 | 0,487 |
| 12 | 10,0 | 8,0 | 2,0 | 30,0 | 0,492 |
| 16 | 12,0 | 10,0 | 6,0 | 28,0 | 0,453 |
| 17 | 5,0 | 10,0 | 15,0 | 30,0 | 0,460 |
| 18 | 7,0 | 11,0 | 12,0 | 30,0 | 0,491 |
| 21 | 12,0 | 16,0 | 2,0 | 30,0 | 0,514 |
| 22 | 14,0 | 9,0 | 7,0 | 30,0 | 0,521 |
| 25 | 18,0 | 10,0 | 2,0 | 30,0 | 0,530 |
| 30 | 4,0 | 14,0 | 12,0 | 30,0 | 0,465 |
| 38 | 17,0 | 3,0 | 9,0 | 29,0 | 0,390 |
| 43 | 17,0 | 8,0 | 5,0 | 30,0 | 0,475 |
| 44 | 20,0 | 5,0 | 4,0 | 29,0 | 0,520 |
| Me (P25; P75) | 10,0 (8,0; 17,0) | 10,0 (8,0; 14,0) | 6,0 (4,0; 11,0) | 30,0 (29,0; 30,0) | 0,491 (0,465; 0,514) |
| P | 0,015 | 0,135 | 0,003 | 0,126 | 0,08 |
| Вода, образец HAS WATER 2, свежеприготовленная | | | | | |
| 31 | 10,0 | 5,0 | 15,0 | 30,0 | 0,483 |
| 39 | 18,0 | 4,0 | 6,0 | 28,0 | 0,460 |
| 45 | 16,0 | 8,0 | 3,0 | 27,0 | 0,495 |
| 46 | 20,0 | 3,0 | 7,0 | 30,0 | 0,525 |
| 48 | 9,0 | 6,0 | 13,0 | 28,0 | 0,481 |
| Me (P25; P75) | 16,0 (10,0; 18,0) | 5,0 (4,0; 6,0) | 7,0 (6,0; 13,0) | 28,0 (28,0; 30,0) | 0,483 (0,481; 0,495) |
| P | 0,016 | 0,026 | 0,086 | 0,853 | 0,25 |
| Вода HAS WATER, хранение в холодильнике | | | | | |
| 19 | 15,0 | 8,0 | 7,0 | 30,0 | 0,514 |
| 34 | 12,0 | 4,0 | 14,0 | 30,0 | 0,365 |
| 49 | 12,0 | 5,0 | 12,0 | 29,0 | 0,485 |
| 50 | 15,0 | 9,0 | 6,0 | 30,0 | 0,519 |
| 51 | 10,0 | 9,0 | 10,0 | 29,0 | 0,452 |
| Me (P25; P75) | 12,0 (12,0; 15,0) | 8,0 (5,0; 9,0) | 10,0 (7,0; 12,0) | 30,0 (29,0; 30,0) | 0,485 (0,452; 0,514) |
| P | 0,05 | 0,194 | 0,179 | 0,266 | 0,46 |
| Вода HAS WATER, хранение в морозильной камере | | | | | |
| 24 | 11,0 | 8,0 | 8,0 | 27,0 | 0,483 |
| 26 | 6,0 | 12,0 | 9,0 | 27,0 | 0,361 |
| 32 | 13,0 | 9,0 | 8,0 | 30,0 | 0,389 |
| 52 | 10,0 | 9,0 | 10,0 | 29,0 | 0,414 |
| 53 | 12,0 | 8,0 | 8,0 | 28,0 | 0,421 |
| Me (P25; P75) | 11,0 (10,0; 12,0) | 9,0 (8,0; 9,0) | 8,0 (8,0; 9,0) | 28,0 (27,0; 29,0) | 0,414 (0,389; 0,421) |
| P | 0,126 | 0,889 | 0,09 | 0,43 | 0,75 |

Окончание таблицы 7

| Вода HAS WATER, хранение при комнатной температуре в темноте | | | | | |
|---|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| 27 | 11,0 | 9,0 | 10,0 | 30,0 | 0,445 |
| 54 | 10,0 | 8,0 | 12,0 | 30,0 | 0,432 |
| 55 | 12,0 | 7,0 | 10,0 | 29,0 | 0,455 |
| 56 | 8,0 | 7,0 | 12,0 | 27,0 | 0,410 |
| 57 | 10,0 | 12,0 | 8,0 | 30,0 | 0,487 |
| Me (P25; P75) | 10 (10,0;11,0) | 8,0 (7,0; 9,0) | 10 (10,0; 12,0) | 30,0 (20,0; 30,0) | 0,445 (0,432; 0,455) |
| P | 0,07 | 0,82 | 0,38 | 0,52 | 0,35 |
| Вода HAS WATER, хранение при комнатной температуре | | | | | |
| 20 | 16,0 | 8,0 | 6,0 | 30,0 | 0,486 |
| 28 | 10,0 | 12,0 | 8,0 | 30,0 | 0,471 |
| 40 | 14,0 | 10,0 | 5,0 | 29,0 | 0,435 |
| 58 | 13,0 | 9,0 | 7,0 | 29,0 | 0,456 |
| 59 | 12,0 | 8,0 | 10,0 | 30,0 | 0,461 |
| Me (P25; P75) | 13,0 (12,0;14,0) | 9,0 (8,0; 10,0) | 7,0 (6,0; 8,0) | 30,0 (29,0; 30,0) | 0,461 (0,456; 0,471) |
| P | 0,05 | 0,71 | 0,03 | 0,27 | 0,35 |
| Вода HAS WATER образец № 2, хранение при комнатной температуре | | | | | |
| 36 | 15,0 | 3,0 | 12,0 | 30,0 | 0,414 |
| 37 | 18,0 | 0,0 | 12,0 | 30,0 | 0,435 |
| 41 | 20,0 | 1,0 | 8,0 | 29,0 | 0,570 |
| 60 | 10,0 | 3,0 | 16,0 | 29,0 | 0,420 |
| 61 | 10,0 | 4,0 | 14,0 | 28,0 | 0,513 |
| Me (P25; P75) | 15,0 (10,0;18,0) | 3,0 (1,0; 3,0) | 12,0 (12,0;14,0) | 29,0 (29,0; 30,0) | 0,44 (0,420; 0,513) |
| P | 0,02 | 0,001 | 0,67 | 0,61 | 0,115 |

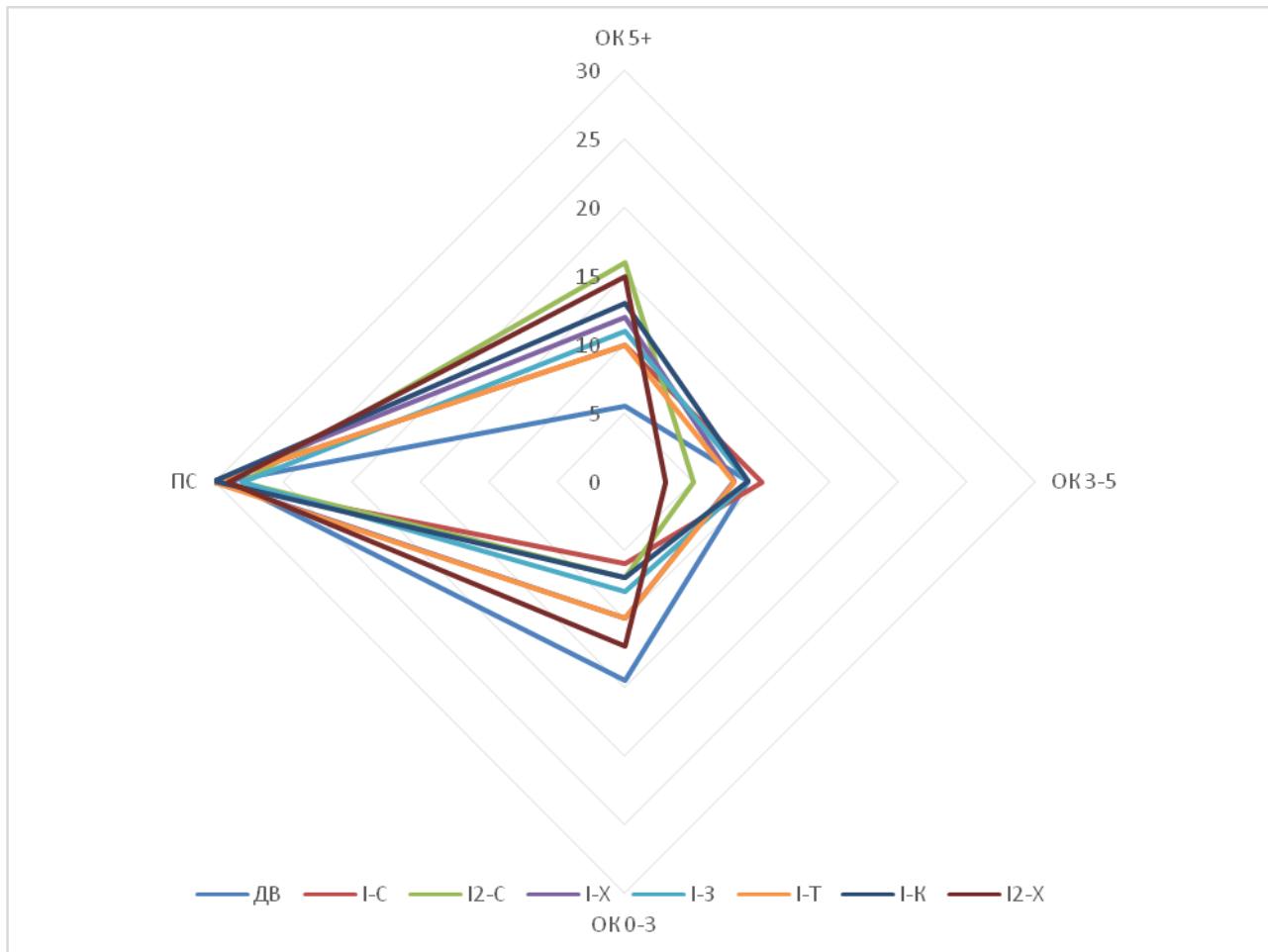


Рисунок 8 - Результаты влияния воды HAS WATER на тест-растение
Lepidium sativum L

Примечание: ДВ - дистиллированная вода; I-C – вода HAS WATER свежеперегнанная; I2-C – вода, образец HAS WATER 2, свежеперегнанная; I-X – вода HAS WATER, хранение в холодильнике; I-3 – вода HAS WATER, хранение в морозильной камере; I-T – вода HAS WATER хранение при комнатной температуре в темноте; I-K – вода HAS WATER, хранение при комнатной температуре; I 2-X – вода HAS WATER образец № 2, хранение при комнатной температуре; ОК5+ - количество семян с длиной основного корня более 5 см, шт; ОК3-5 – количество семян с длиной основного корня от 3 до 5 см, шт; ОК 0-3 – количество семян с длиной основного корня от 0 до 3 см; ПС – количество проросших семян, шт.

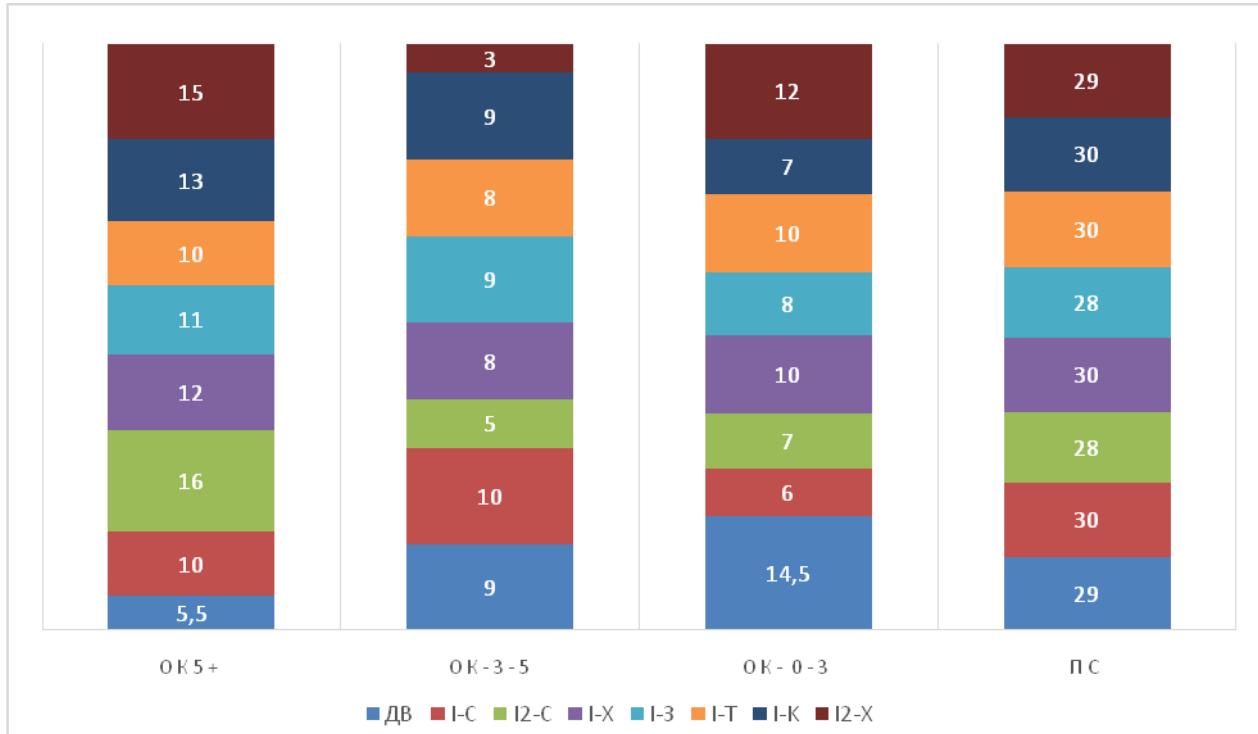


Рисунок 9 - Результаты влияния воды HAS WATER на тест-растение
Lepidium sativum L

Примечание: ДВ - дистиллированная вода; I-C - вода HAS WATER свежеперегнанная; I2-C – вода, образец HAS WATER 2, свежеперегнанная; I-X – вода HAS WATER, хранение в холодильнике; I-3 – вода HAS WATER, хранение в морозильной камере; I-T – вода HAS WATER, хранение при комнатной температуре в темноте; I-K – вода HAS WATER, хранение при комнатной температуре; I2-X – вода HAS WATER образец № 2, хранение при комнатной температуре; ОК5+ - количество семян с длиной основного корня более 5 см, шт; ОК-3-5 – количество семян с длиной основного корня от 3 до 5 см, шт; ОК 0-3 – количество семян с длиной основного корня от 0 до 3 см; ПС – количество проросших семян, шт.

При сравнительной оценке показателя «Энергия прорастания семян», определяемой процентом проросших семян экспериментальных групп достоверно значимых отличий установлено не было. Семена активно прорастали через сутки во всех экспериментальных группах (табл. 7).

Анализируя рисунки 8 и 9, прослеживаются явно выраженные ответные реакции тест-культур на исследуемые воды в виде заметной стимуляции роста

корневой системы по сравнению с контролем во всех испытуемых образцах воды HAS WATER, что свидетельствует о присутствии в воде стимулирующих веществ оказывающих ростостимулирующее действие на развитие растений.

1.5 Результаты исследования влияния воды HAS WATER на рост мицелиальных грибов

Ввиду повсеместного присутствия плесневых грибков можно предположить, что они всегда находятся в воздухе замкнутого помещения [3]. В связи с этим в качестве тест-объекта были выбраны микроскопические грибы воздушной среды помещений. Изоляцию микроскопических грибов проводили методом осаждения, путем оставления чашки с питательной средой Чапека (универсальная, неселективная, питательная среда) на столе в течение 30 минут открытыми, на которую предварительно были помещены диски фильтровальной бумаги, пропитанные дистиллированной водой (контроль) и пробами испытуемой воды HAS WATER (опытные образцы). После истечения времени чашки Петри закрывали крышкой и оставляли при комнатной температуре (23-25 °C) для наблюдений за ростом колоний в течение 14 суток (рис. 10), а также путем изоляции спор из сена.

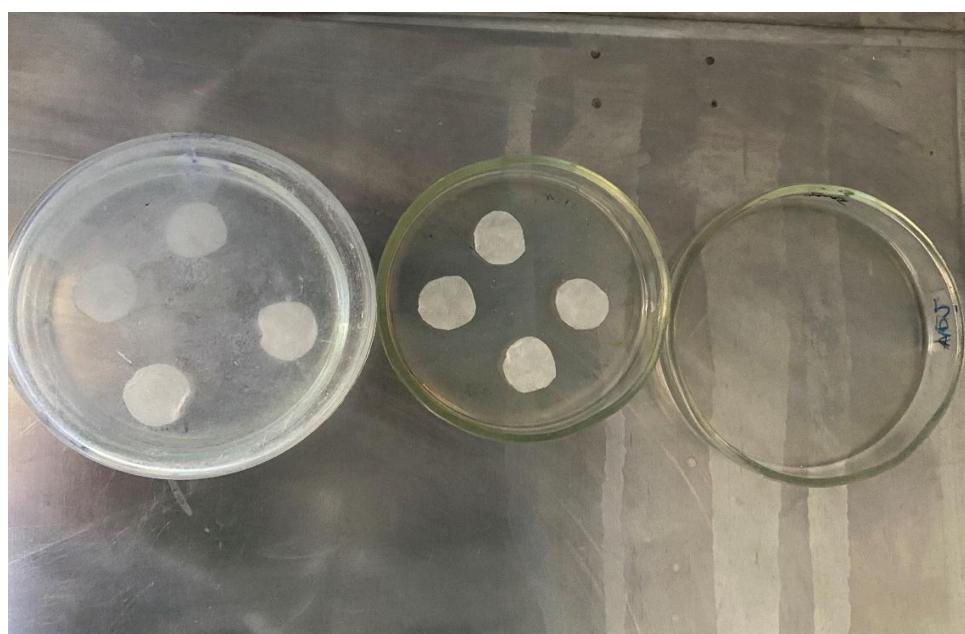


Рисунок 10 – Изоляция микроскопических грибов методом осаждения на питательной среде Чапека.

Для этого в колбы с образцами сена добавляли по 30 мл испытуемой (опытные образцы) и дистиллированной воды (контроль), оставляли на 30 минут, затем кружки фильтровальной бумаги помещали в воду и укладывали на питательную среду Чапека, закрывали крышками, культивировали также в течение 14 суток. Отдельная серия была проведена с использованием симбиотика Симбион-Д – продукта метаболизма симбиотической культуры *Medusomycesgisevii*, содержащий в своем составе уксуснокислые бактерии *Gluconacetobacterimxylinum*, *Acetobacterimaceti*, а также дрожжи *Saccharomycessp.*, *Torulopsisdattilf* и др. [5]. Симбион-Д разводили экспериментальными образцами воды HAS WATER 1:1, затем кружки фильтровальной бумаги пропитывали раствором и укладывали на питательную среду Чапека, оставляли открытыми на 30 минут для осаждения спор из воздуха, закрывали крышками и наблюдали в течение 14 суток. Температурный режим сохранялся на уровне предыдущих серий. Схема эксперимента представлена в таблице 8.

Таблица 8 – Схема эксперимента по изучению влияния воды HAS WATER на рост микроскопических грибов

| Серия | Тестируемые объекты | Номера чашек | Количество проб |
|-------------------------------|---|--------------|-----------------|
| <i>Воздух помещения</i> | | | |
| 1 | Дистиллированная вода | 1, 2 | 8 |
| 1 | Вода HAS WATER свежеприготовленная | 3, 4 | 8 |
| 1 | Вода, образец HAS WATER 2, свежеприготовленная | 5, 6 | 8 |
| <i>Настой сена водный 1/1</i> | | | |
| 1 | Вода HAS WATER свежеприготовленная | 7 | 4 |
| 1 | Вода, образец HAS WATER 2, свежеприготовленная | 8 | 4 |
| 1 | Дистиллированная вода | 9 | 4 |
| <i>Воздух помещения</i> | | | |
| 1 | Симбион-Д/Вода, образец HAS WATER 2 свежеприготовленная в соотношении 1/1 | 10 | 4 |
| 1 | Симбион-Д/ Вода HAS WATER свежеприготовленная в соотношении 1/1 | 11 | 4 |
| 1 | Дистиллированная вода | 12 | 4 |

Видовую идентификацию микроскопических (плесневых) грибов проводили по морфологическим признакам с использованием стандартных определителей [4].

Оценку влияния воды HAS WATER на рост микроскопических грибов проводили по следующим критериям: 1 – количество колоний, 2 – род микроскопических грибов.

Результаты исследований представлены на рисунке 11.

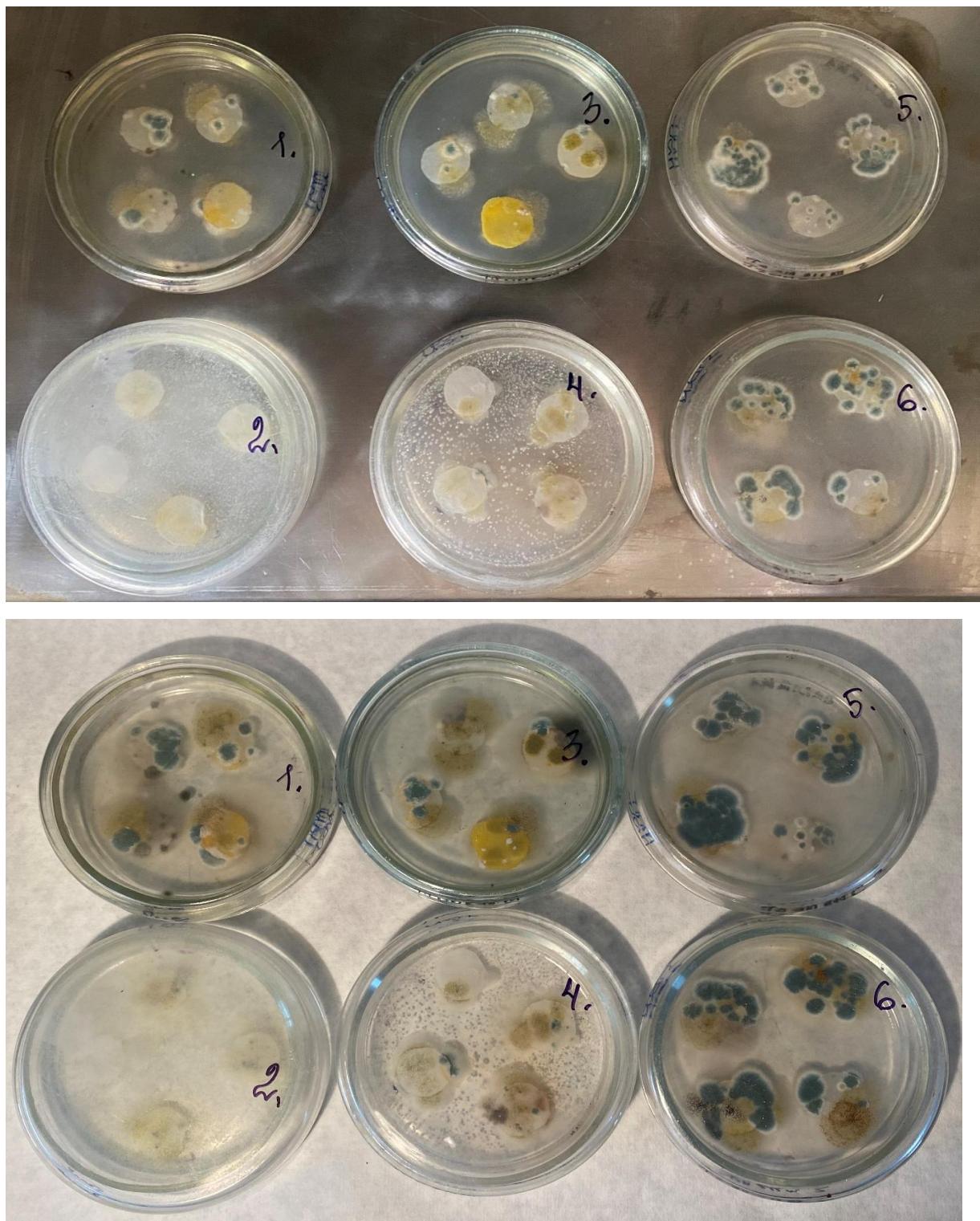
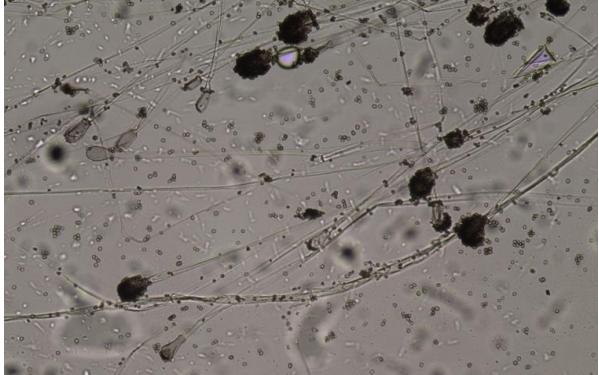
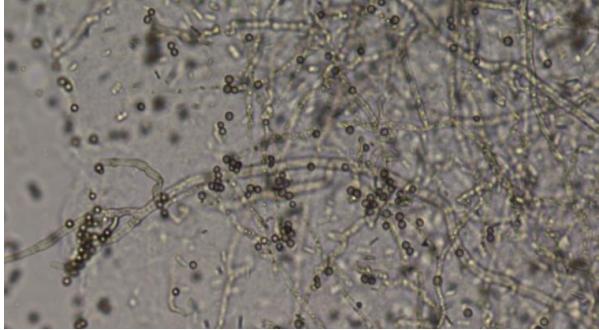


Рисунок 11 – Внешний вид колоний микроскопических грибов проб №№ 1-6 через 72 часа.

Микрофотосъемку нативных препаратов колоний грибов проводили на микроскопе Альтами БИО 1 с использованием цифровой окулярной USB камеры USMOSO3100KPA при увеличении 300 (табл. 9).

Таблица 9 –Морфологические признаки плесневых грибов, используемых в эксперименте

| Морфологические признаки плесневых грибов | Родовая принадлежность |
|---|-------------------------|
|  | Под <i>Penicillium</i> |
|  | Под <i>Aspergillum</i> |
|  | Под <i>Mucor</i> |
|  | Под <i>Cladosporium</i> |

Результаты 1-ой серии экспериментов представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Количество колоний и родовая принадлежность микроскопических грибов при использовании экспериментальных образцов воды HAS WATER

| Серия | Тестируемые объекты | Номера чашек | Количество колоний | Род микроскопических грибов |
|------------------------|--|---------------------|---------------------------|------------------------------------|
| Воздух помещения | | | | |
| 1 | Дистиллированная вода | 1 | 10 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 3 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | | 3 | <i>Mucor</i> |
| | | Всего колоний | 16 | |
| | | 2 | 2 | <i>Penicillium</i> |
| | | | Вся чашка | <i>Mucor</i> |
| | | Всего колоний | 3 | |
| 1 | Вода HAS WATER свежеприготовленная | 3 | 6 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 8 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | | 3 | <i>Mucor</i> |
| | | Всего колоний | 17 | |
| | | 4 | 4 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 3 | <i>Mucor</i> |
| | | | 5 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | Всего колоний | 12 | |
| 1 | Вода, образец HAS WATER 2, свежеприготовленная | 5 | 24 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 4 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | Всего колоний | 28 | |
| | | 6 | 28 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 2 | <i>Mucor</i> |
| | | | 4 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | Всего колоний | 34 | |
| Настой сена водный 1/1 | | | | |
| 1 | Вода HAS WATER свежеприготовленная | 7 | 16 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 6 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | | 3 | <i>Fusarium</i> |
| | | | 4 | <i>Mucor</i> |
| | | | 2 | <i>Cladosporium</i> |
| | | Всего колоний | 31 | |

Окончание таблицы 10

| | | | | |
|-------------------------|--|---------------|-----------|------------------------------|
| 1 | Вода, образец HAS WATER 2, свежеприготовленная | 8 | 12 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 2 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | | 3 | <i>Aspergillus ochraceus</i> |
| | | | 10 | <i>Mucor</i> |
| | | | 1 | <i>Cladosporium</i> |
| | | | 3 | <i>Alternaria</i> |
| | | | 1 | <i>Fusarium</i> |
| | | Всего колоний | 32 | |
| 1 | Дистиллированная вода | 9 | 11 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 2 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | | 4 | <i>Aspergillus ochraceus</i> |
| | | | 3 | <i>Mucor</i> |
| | | | 2 | <i>Cladosporium</i> |
| | | Всего колоний | 22 | |
| Воздух помещения | | | | |
| 1 | Симбион-Д/Вода, образец HAS WATER 2, свежеприготовленная в соотношении 1/1 | 10 | 22 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 1 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | | 2 | <i>Aspergillus ochraceus</i> |
| | | | Вся чашка | <i>Mucor</i> |
| | | | 1 | <i>Cladosporium</i> |
| | | | 1 | <i>Fusarium</i> |
| | | Всего колоний | 27 | |
| 1 | Симбион-Д/ Вода HAS WATER свежеприготовленная в соотношении 1/1 | 11 | 12 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 3 | <i>Aspergillusflavus</i> |
| | | | 1 | <i>Aspergillusochraceus</i> |
| | | | 3 | <i>Mucor</i> |
| | | | 2 | <i>Cladosporium</i> |
| | | | 1 | <i>Fusarium</i> |
| | | Всего колоний | 22 | |
| 1 | Дистиллированная вода | 12 | 11 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 5 | <i>Aspergillusflavus</i> |
| | | | 2 | <i>Mucor</i> |
| | | | 7 | <i>Cladosporium</i> |
| | | Всего колоний | 25 | |

Результаты 1-ой серии экспериментов свидетельствуют об активации роста микроскопических грибов в опытных образцах №№ 3-6. Количество колоний в них было выше от 1,4 до 3,2 раза по сравнению с контролем (вода дистиллированная). Особенно выражен рост грибов рода *Penicillium* при использовании воды образец HAS WATER 2, свежеприготовленная, количество

которых в чашках было в 2 раза выше, чем при испытании дистиллированной воды, и в 6 раз выше, чем при испытании воды HAS WATER свежеприготовленной.

Результаты исследования по изучению влияния воды HAS WATER свежеприготовленной и воды, образец HAS WATER 2, свежеприготовленной на споры микроскопических грибов, извлеченных из сена, также свидетельствуют о стимулирующем эффекте испытуемой воды (рис. 12).

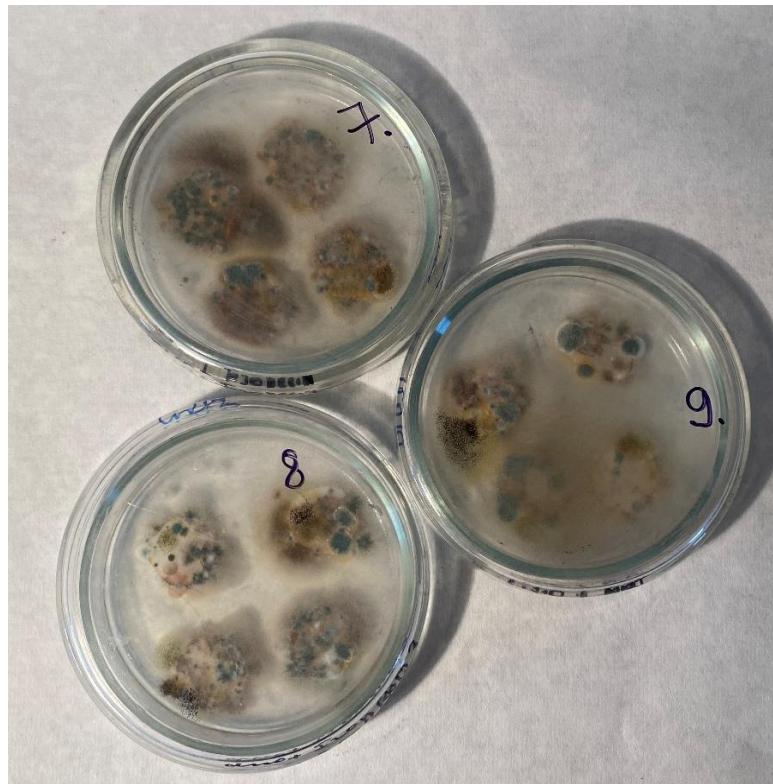


Рисунок 12 – Внешний вид колоний микроскопических грибов проб №№ 7-9 через 72 часа.

Результаты исследования влияния воды HAS WATER свежеприготовленной и воды, образец HAS WATER 2, свежеприготовленной в комбинации с Симбион-Д представлены на рисунке 13 свидетельствуют об увеличении числа и размера колоний микроскопических грибов рода *Penicillium* в пробе № 10 (Симбион-Д/ Вода, образец HAS WATER 2, свежеприготовленная в соотношении 1:1) и увеличении числа и диаметра колоний микроскопических грибов рода *Aspergillus* в пробе № 11 (Симбион-Д/ Вода HAS WATER свежеприготовленная в соотношении 1:1).

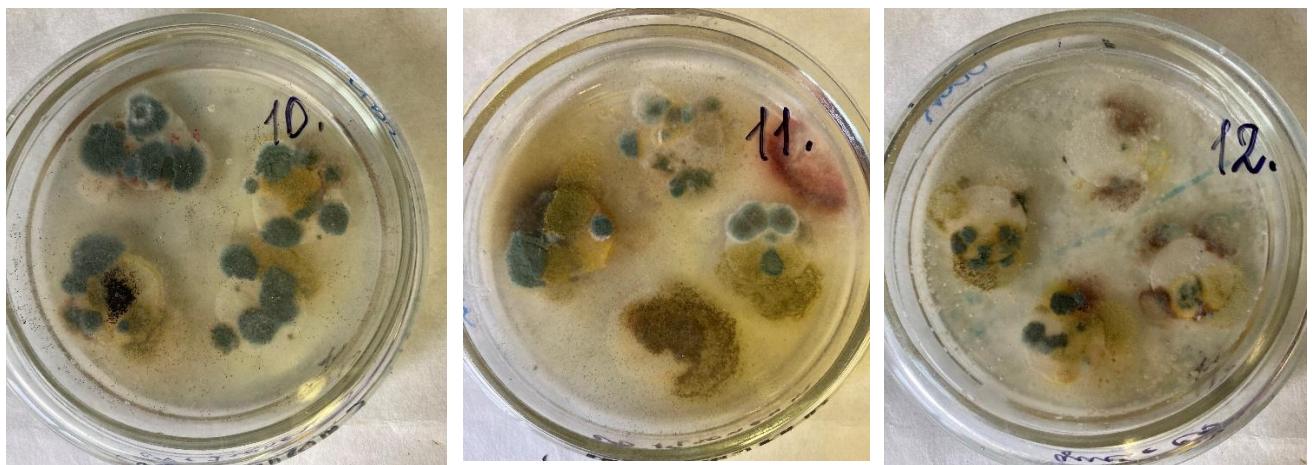


Рисунок 13 – Внешний вид колоний микроскопических грибов проб №№ 10-12 через 7 суток.

Таким образом, в 1-ой серии экспериментальной работы установлен ростостимулирующий эффект воды HAS WATER на споры мицелиальных грибов. Наиболее значительно он проявился на микроскопических грибах родов *Penicillium* и *Aspergillus*.

Во второй серии эксперимента пробы фильтровальной бумаги, пропитанные испытуемой водой HAS WATER обоих образцов размещали в одной чашке Петри. Схема исследования представлена в таблице 11.

Таблица 11 – Схема эксперимента по изучению влияния воды HAS WATER на рост микроскопических грибов

| Серия | Тестируемые объекты | Номера чашек | Количество проб |
|------------------|--|--------------|-----------------|
| Воздух помещения | | | |
| 2 | Симбион-Д/Вода, образец HAS WATER 1, свежеприготовленная в соотношении 1/1 | 1, 7 | 4 |
| | Симбион-Д/ Вода дистилированная 1/1 | 2 | 2 |
| | Вода HAS WATER свежеприготовленная | 3, 5 | 4 |
| | Дистиллированная вода | 4 | 4 |
| | Симбион-Д | 6 | 4 |

Результаты исследования представлены в таблице 12.

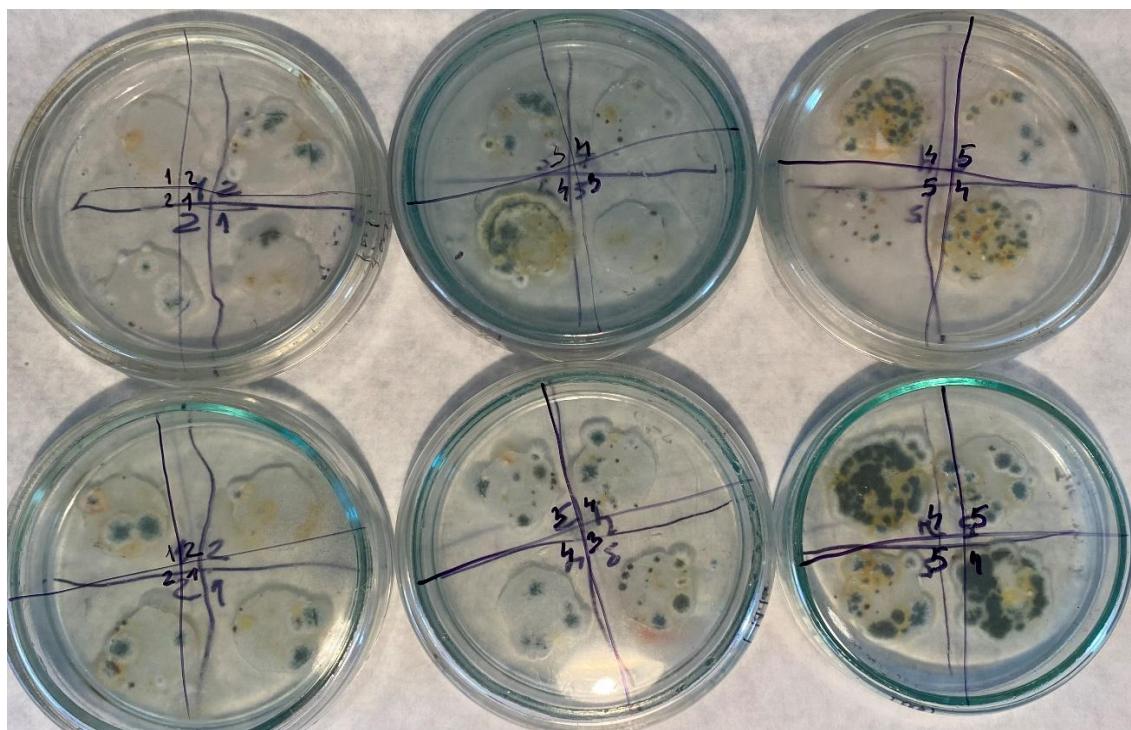
Таблица 12 – Количество колоний и родовая принадлежность микроскопических грибов при использовании экспериментальных образцов воды HAS WATER

| Серия | Тестируемые объекты | Номера чашек | Количество колоний | Род микроскопических грибов |
|------------------|---|---------------|---------------------------|------------------------------|
| Воздух помещения | | | | |
| 2 | Симбион-Д/Вода, образец HAS WATER 1, свежеприготовленна в я соотношении 1/1 | 1 Чашка 1 | 6 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 3 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | Всего колоний | 9 | |
| | | 1 Чашка 2 | 2 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 2 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | Всего колоний | 4 | |
| | | 7 | 10 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 1 | <i>Mucor</i> |
| 2 | Симбион-Д/ Вода дистиллированная 1/1 | | 2 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | 2 Чашка 1 | 9 | <i>Penicillium</i> | |
| | | 2 | <i>Aspergillus flavus</i> | |
| | Всего колоний | 11 | | |
| | 2 Чашка 2 | 4 | <i>Penicillium</i> | |
| | | 5 | <i>Aspergillus flavus</i> | |
| | | 1 | <i>Mucor</i> | |
| | Всего колоний | 10 | | |
| 2 | Вода HAS WATER свежеприготовленная | 3 Чашка 1 | 5 | <i>Penicilliumspp.</i> |
| | | | 1 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | | 1 | <i>Aspergillus ochraceus</i> |
| | | Всего колоний | 7 | |
| | | 3 Чашка 2 | 22 | <i>Penicilliumspp.</i> |
| | | | 1 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | Всего колоний | 23 | |
| | | 5 Чашка 1 | 11 | <i>Penicilliumspp.</i> |
| | | | 2 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | | 8 | <i>Cladosporium</i> |
| | | Всего колоний | 21 | |
| | | 5 Чашка 2 | 19 | <i>Penicilliumspp.</i> |
| | | | 3 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | | 1 | <i>Cladosporium</i> |
| | | Всего колоний | 23 | |

Окончание таблицы 12

| | | | | | |
|---|-----------------------|---------------|---------|----|---------------------------|
| 2 | Дистиллированная вода | 4 | Чашка 1 | 6 | <i>Penicilliumspp.</i> |
| | | | | 3 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | Всего колоний | | 9 | |
| | | 4 | Чашка 2 | 38 | <i>Penicilliumspp.</i> |
| | | | | 3 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | Всего колоний | | 41 | |
| | | 4 | Чашка 3 | 35 | <i>Penicilliumspp.</i> |
| | | | | 6 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | Всего колоний | | 41 | |
| | | 4 | Чашка 4 | 10 | <i>Penicilliumspp.</i> |
| | | | | 4 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | Всего колоний | | 14 | |

Результаты визуальной оценки роста колоний микроскопических грибов при одновременном присутствии в чашке образцов опытной пробы воды HAS WATER (проба № 5) и воды дистиллированной свидетельствуют о более активном росте грибов на диске, пропитанном дистиллированной водой (проба № 4) (рис. 14).



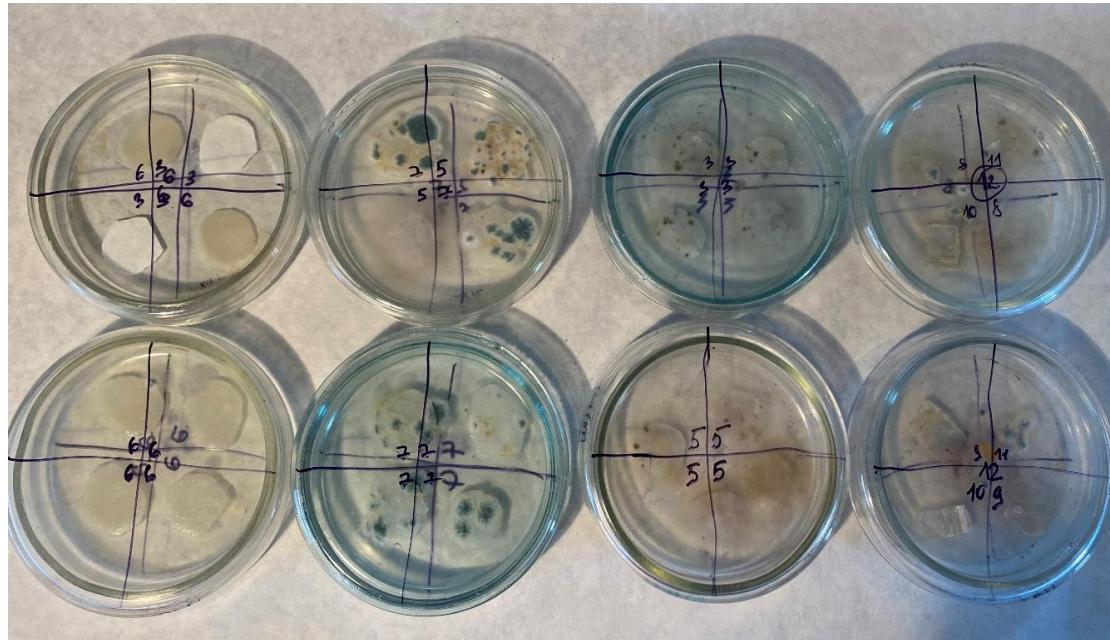


Рисунок 14 – Внешний вид колоний микроскопических грибов проб №№ 1-11 через 3 суток.

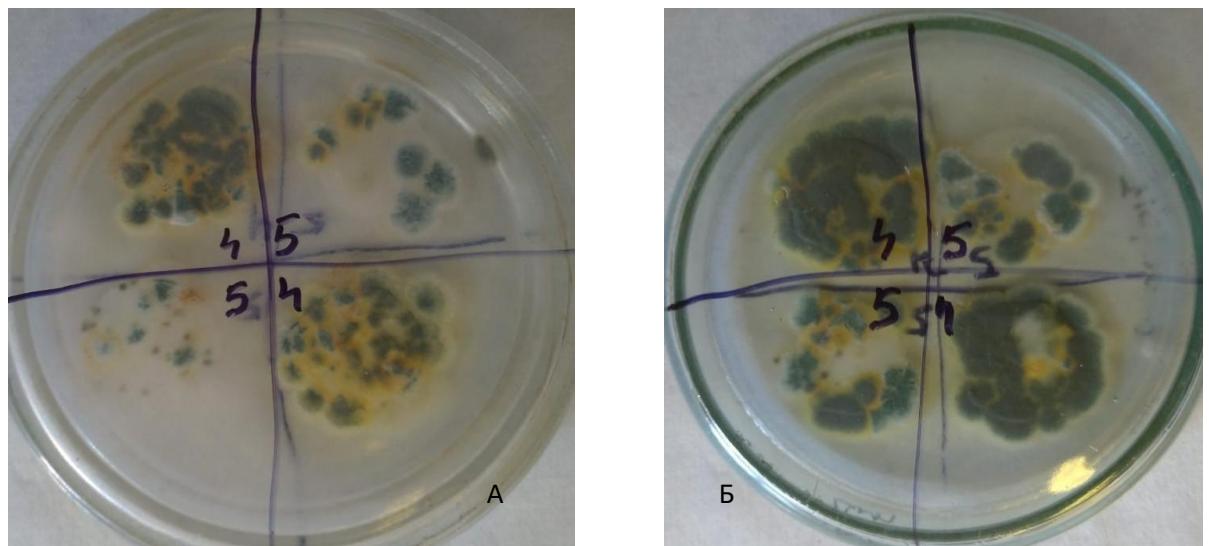


Рисунок 15 – Внешний вид колоний микроскопических грибов рода *Penicillium* проб №№ 4 и 5 через 3 (А) и 7 (Б) суток.

При добавлении в опытный образец воды HAS WATER симбиотического препарата Симбион-Д в соотношении 1:1 количество колоний микроскопических грибов значимых изменений отмечено не было (рис. 16, 17).



Рисунок 16 – Внешний вид колоний микроскопических грибов рода *Penicillium* проб №№ 1-4 через 3 суток.

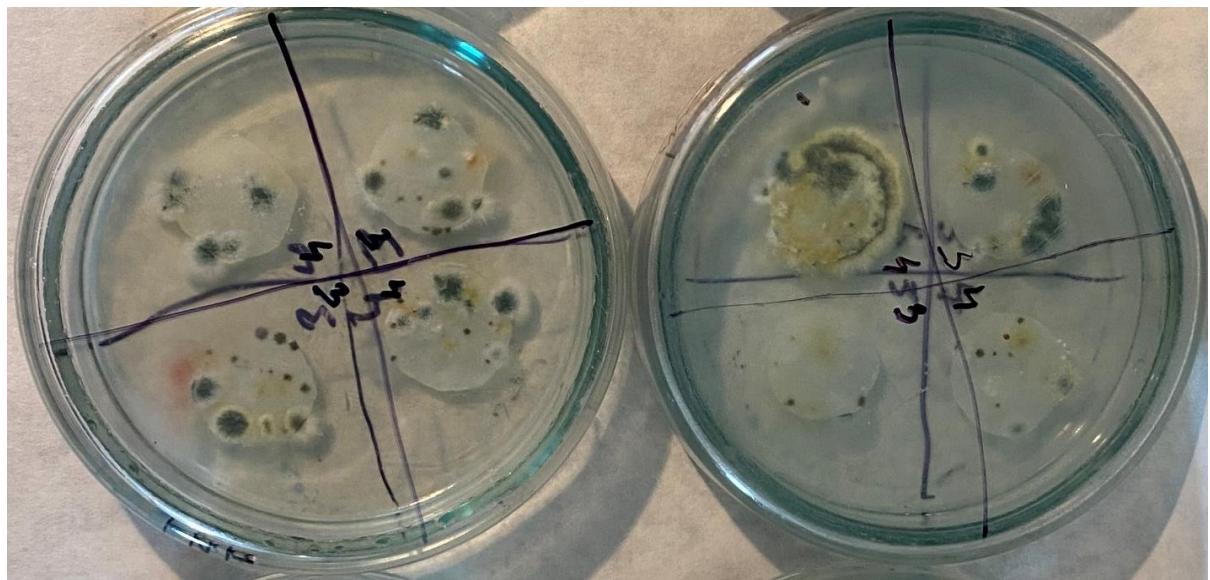


Рисунок 17 – Внешний вид колоний микроскопических грибов рода *Penicillium* проб №№ 3-4 через 3 суток.

Таким образом, результаты исследований по изучению влияния воды HAS WATER на рост колоний микроскопических грибов при одновременном размещении дисков с опытной водой и водой дистиллированной в одной чашке питательной среды свидетельствуют о сдерживании роста грибов рода *Penicillium*.

В третьей серии эксперимента пробы фильтровальной бумаги, пропитанные испытуемой водой HAS WATER обоих образцов, размещали в одной чашке Петри. Схема исследования представлена в таблице 13.

Таблица 13 – Схема эксперимента по изучению влияния воды HAS WATER на рост микроскопических грибов

| Серия | Тестируемые объекты | Номера чашек | Количество проб |
|------------------|---|--------------|-----------------|
| Воздух помещения | | | |
| 3 | Дистиллированная вода | 1, 2 | 8 |
| | Вода HAS WATER свежеприготовленная | 3, 4, 12 | 12 |
| | Симбион-Д в чистом виде | 5, 6 | 8 |
| | Симбион-Д /Вода HAS WATER свежеприготовленная 1:1 | 7, 8 | 8 |
| | Симбион-Д /Дистиллированная вода 1:1 | 9, 10 | 8 |

Результаты исследования представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Количество колоний и родовая принадлежность микроскопических грибов при использовании экспериментальных образцов воды HAS WATER

| Серия | Тестируемые объекты | Номера чашек | Количество колоний | Род микроскопических грибов |
|------------------|-----------------------|--------------|--------------------|-----------------------------|
| Воздух помещения | | | | |
| 3 | Дистиллированная вода | 1 | 4 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 6 | <i>Aspergillus</i> |
| | | | Вся чашка | <i>Mucor</i> |
| | Всего колоний | 2 | 11 | |
| | | | 11 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 5 | <i>Aspergillus</i> |
| | | | Вся чашка | <i>Mucor</i> |
| | Всего колоний | | 1 | <i>Fusarium</i> |
| | | | 18 | |

Окончание таблицы 14

| | | | | |
|---|--|---------------|---------------|---------------------------|
| 3 | Вода, образец HAS WATER 1, свежеприготовленная | 3 | 22 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 4 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | | 3 (2/3 чашки) | <i>Mucor</i> |
| | | Всего колоний | 30 | |
| | | 4 | 4 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 1 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | | Вся чашка | <i>Mucor</i> |
| | | Всего колоний | 6 | |
| | | 12 | 20 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 7 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | | 1 | <i>Mucor</i> |
| | | Всего колоний | 28 | |
| 3 | Симбион-Д | 5 | 13 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 4 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | | 2 | <i>Mucor</i> |
| | | Всего колоний | 19 | |
| | | 6 | 10 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 4 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | | 4 | <i>Mucor</i> |
| | | Всего колоний | 18 | |
| 3 | Симбион-Д /Вода HAS WATER свежеприготовленная 1:1 | 7 | 7 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 7 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | | 1 | <i>Aspergillus</i> |
| | | | 3 | <i>Mucor</i> |
| | | Всего колоний | 18 | |
| | | 8 | 14 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 7 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | | 3 | <i>Mucor</i> |
| | | Всего колоний | 24 | |
| 6 | Симбион-Д /Дистиллированная вода 1:1 | 9 | 18 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 4 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | Всего колоний | 22 | |
| | | 10 | 12 | <i>Penicillium</i> |
| | | | 8 | <i>Aspergillus flavus</i> |
| | | | 3 | <i>Mucor</i> |
| | | Всего колоний | 23 | |

Анализируя количество и размер колоний микроскопических грибов в третьей серии экспериментальных исследований следует отметить, что

значительного стимулирующего эффекта воды HAS WATER на микроскопические грибы рода *Penicillium* установлено не было (рис. 18).

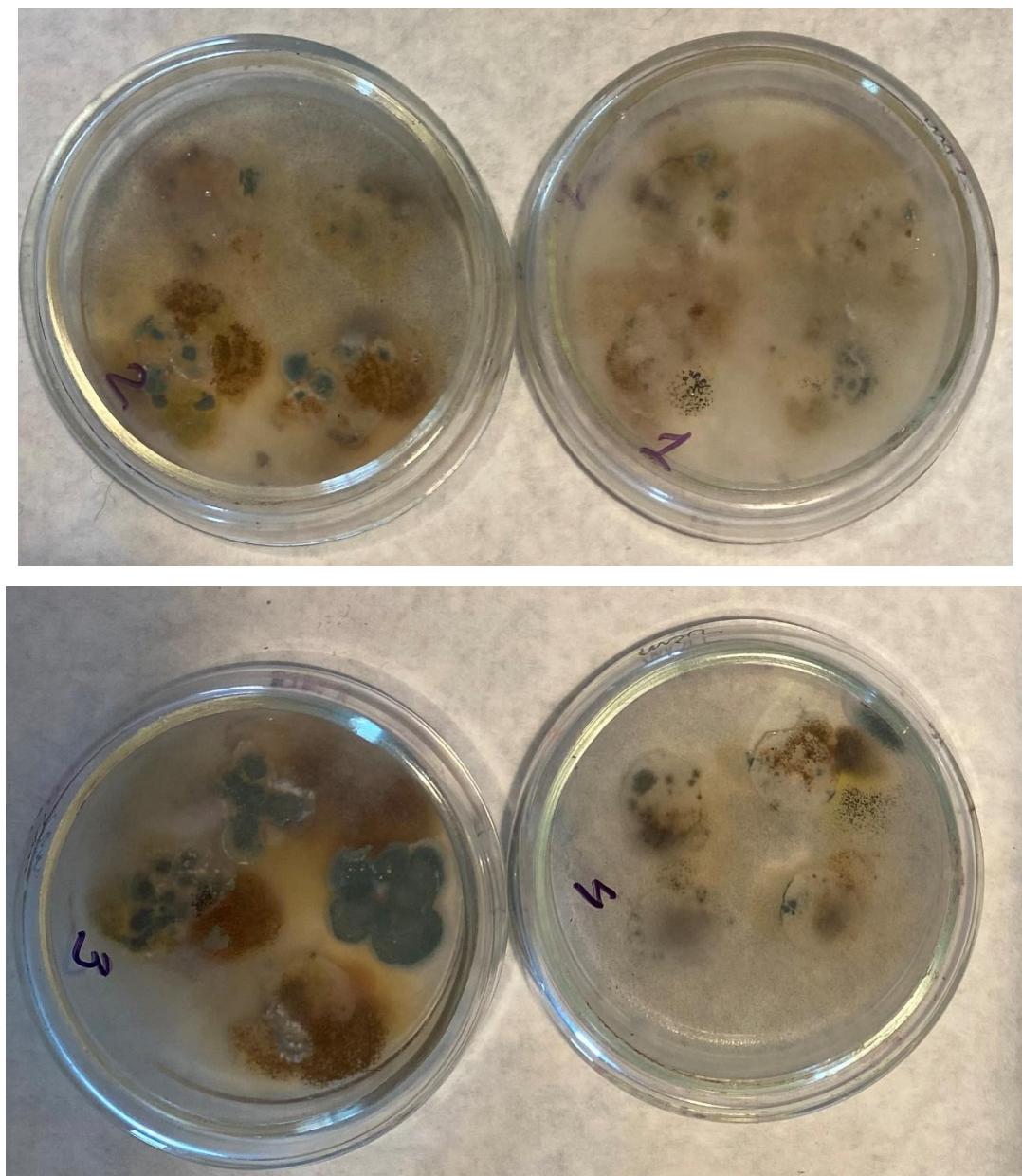


Рисунок 18 – Внешний вид колоний микроскопических грибов проб №№ 1-2 – дистиллированная вода; №№ 3-4 –вода HAS WATER через 7 суток.

Добавление воды свежеприготовленной HAS WATER в симбиотик Симбион-Д в соотношении 1:1 также не оказывало значимого стимулирующего эффекта на рост колоний микроскопических грибов (рис. 19, 20, 21).

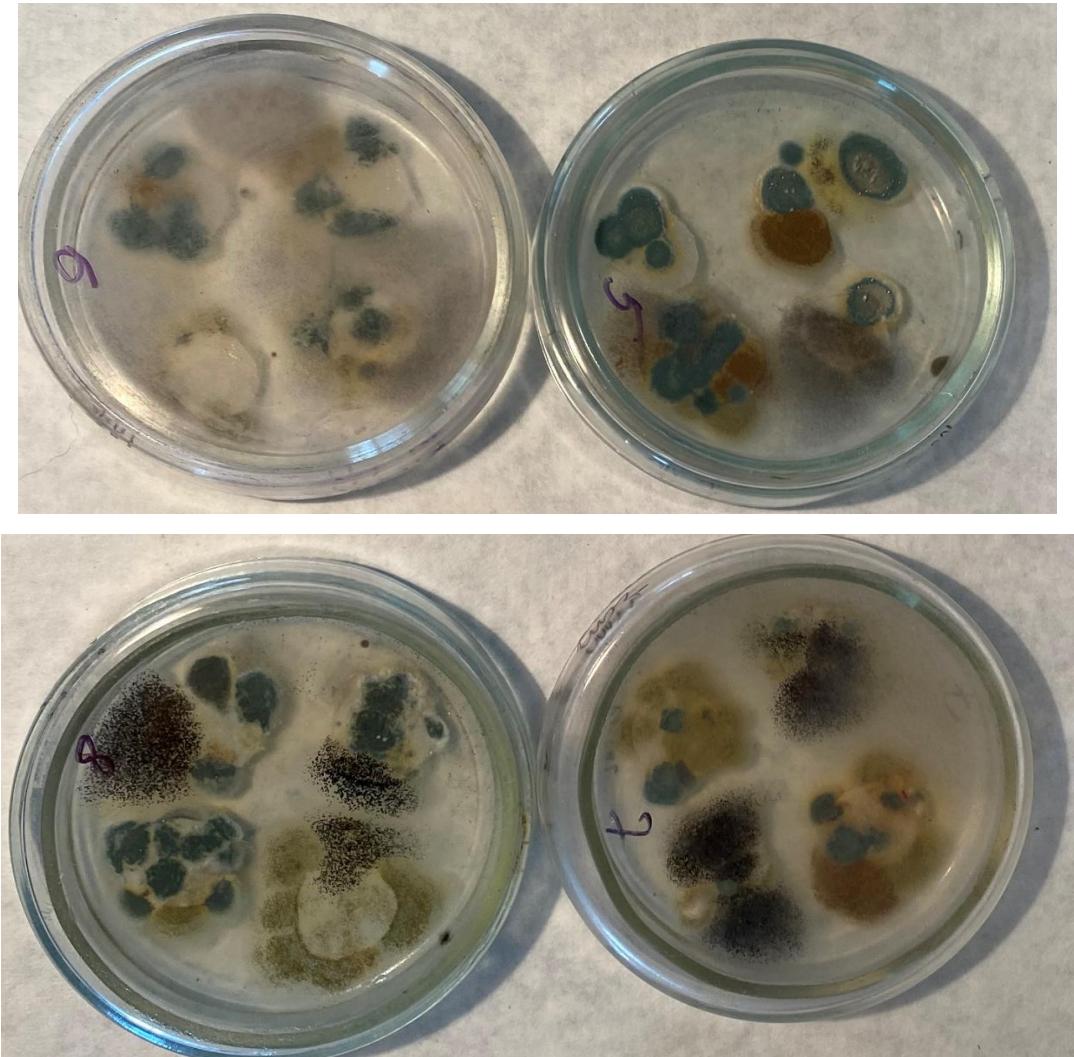


Рисунок 19 – Внешний вид колоний микроскопических грибов проб №№ 5-6 – Симбион-Д; №№ 7-8 – вода HAS WATER + Симбион-Д 1:1, через 7 суток.

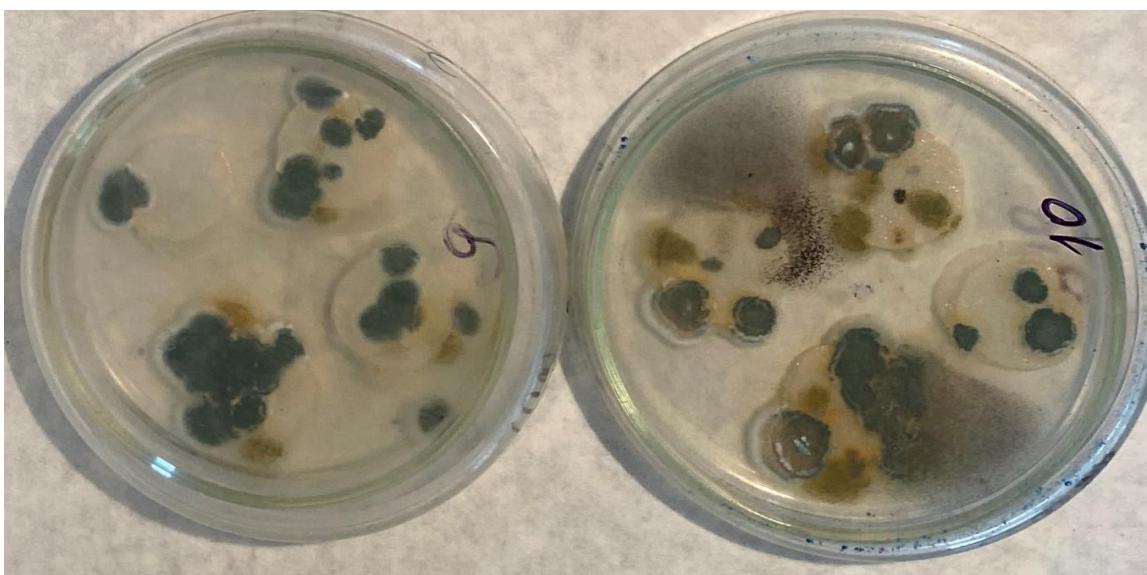


Рисунок 20- Внешний вид колоний микроскопических грибов проб №№ 9, 10 – Симбион-Д/ дистиллированная вода 1:1, через 7 суток.

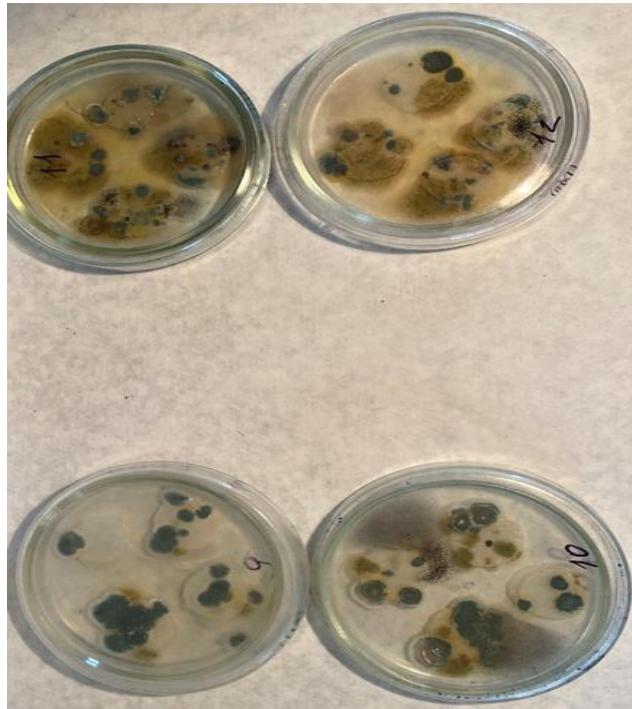


Рисунок 21 – Внешний вид колоний микроскопических грибов проб № 12 – вода, образец HAS WATER 1, свежеприготовленная, через 7 суток.

Таким образом, экспериментальные исследования по оценке влияния воды HAS WATER на развитие микроскопических грибов свидетельствуют о возможном стимулирующем эффекте воды на рост колоний родов *Penicillium* и *Aspergillus*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. По сумме исследований критериев химической, микробиологической и радиологической безопасности вода HAS WATER по исследуемым показателям соответствует требованиям Технического регламента Евразийского экономического союза «О безопасности упакованной питьевой воды, включая природную минеральную воду» (ТР ЕАЭС 044/2017).
2. Вода HAS WATER по степени токсичности проб природной и питьевой воды относится к нетоксичной в teste на инфузориях *Styloynchiamytilus*. При пятикратном пересеве тест-организмов в испытуемых пробах воды коэффициент прироста составлял 1,1 - 1,7 в зависимости от условий хранения испытуемой воды.
3. Вода HAS WATER увеличивает количество семян кress-салата (*Lepidium sativum L*) весеннего с длиной основного корня более 5,0 см в 2,3 и 3 раза в зависимости от условий ее хранения. Максимальный стимулирующий эффект на тест-растениях регистрировали у образцов воды HAS WATER, проба 2.
4. Результаты оценки влияния воды HAS WATER на развитие микроскопических грибов свидетельствуют о возможном стимулирующем эффекте воды на рост колоний родов *Penicillium* и *Aspergillus*.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. ГОСТ Р 57166-2016.Определение токсичности по выживаемости пресноводных инфузорий ParameciumcaudatumEhrenber. - Электронный ресурс. – Точка доступа: <https://www.rts-tender.ru/poisk/gost/r-57166-2016>
2. Кубрина Л.В., Супиниченко Е.А. Использование кресс-салата как тест-объекта для оценки загрязнения снежного покрова. - Электронный ресурс. – Точка доступа:<https://science-biology.ru/ru/article/view?id=1218>
3. ГОСТ Р ИСО 16000-19-2014. Воздух замкнутых помещений. Часть 19. Отбор проб плесневых грибков. – Электронный ресурс. – точка доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200114215>.
4. Литвинов М.А. Определитель микроскопических почвенных грибов. Электронный ресурс. – Точка доступа: [http://sciencebooks.cc%201967\).pdf](http://sciencebooks.cc%201967).pdf)
5. Рогожин В.В., Рогожин Ю.В.Medusomycesgisevii: строение, функционирование и использование. Электронный ресурс. – Точка доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/medusomyces-gisevii-stroenie-funktsionirovanie-i-ispolzovanie/viewer>