

## ЭЛЕКТРОПРОВОДНОСТЬ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ АЛАНИНА И ВАЛИНА, ПРИГОТОВЛЕННЫХ ИТЕРАЦИОННЫМ МЕТОДОМ РАЗБАВЛЕНИЯ С ПОСЛЕДУЮЩИМ ИНТЕНСИВНЫМ МЕХАНИЧЕСКИМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ

Семенова Е.В., Лобышев В.И.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова  
Ленинские горы, 1/2, г. Москва, 119991, РФ; e-mail: lobyshev@yandex.ru  
Поступила в редакцию 25.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbpс.2022.0530

**Аннотация.** Описана методика приготовления сильно разбавленных растворов путем итерационного разбавления, сопровождающегося интенсивным механическим воздействием. Представлены результаты измерений высокочастотной электропроводности и диэлектрической проницаемости серии образцов L и D изомеров аланина и валина. Отсутствие диэлектрического инкремента во всех образцах свидетельствует об отсутствии в растворах мезочастиц с высокой диэлектрической проницаемостью. Зарегистрирована немонотонная, сложная зависимость электропроводности от числа N итераций разбавления. Такого типа зависимость сохраняется при больших N, когда понятие концентрации растворяемого вещества теряет смысл, что свидетельствует об изменениях состава водных растворов при механических воздействиях. Повторные измерения образцов, хранившихся в закрытых флаконах, находившихся в закрытых картонных коробках при комнатных условиях, выявили долговременные эволюционные процессы в водных растворах. Особенность эволюции электропроводности растворов аланина и валина, по сравнению с ранее исследованными потенцированными растворами диклофенака, состоит в уменьшении электропроводности со временем, что противоречит дополнительному растворению углекислого газа из атмосферы при открытии флаконов и растворению стекла. Различий в свойствах растворов L и D изомеров аланина и валина не обнаружено.

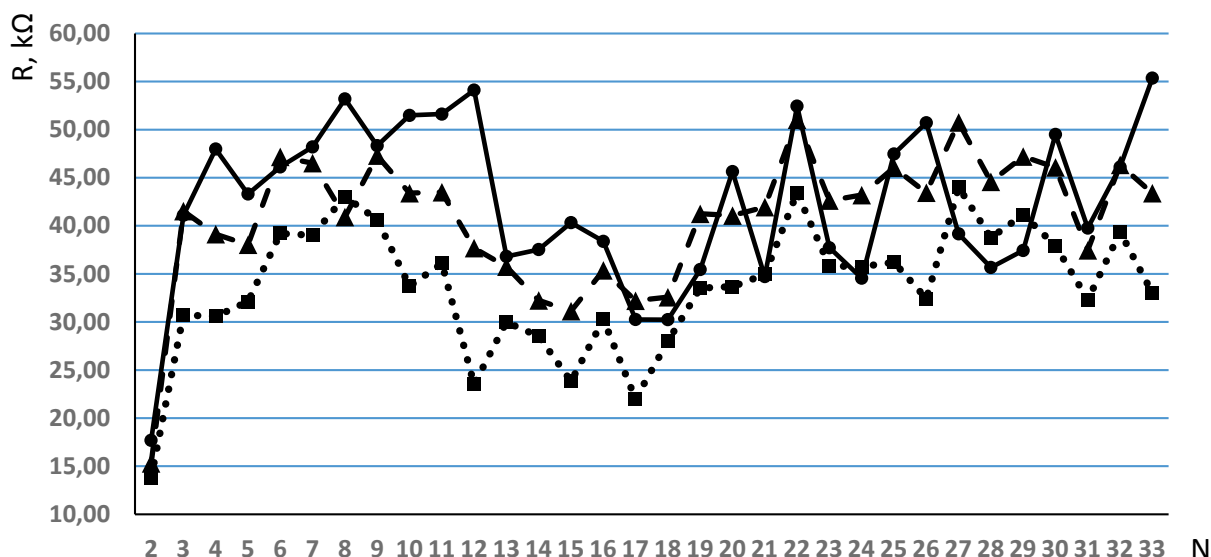
**Ключевые слова:** разбавленные водные растворы, интенсивное механическое воздействие, аминокислоты, диклофенак, электропроводность, активные формы кислорода.

Работа является развитием решения проблемы влияния малых и сверхмалых концентраций на биологические системы в части изучения физико-химических особенностей растворов, приготовленных по технологии многократных последовательных разбавлений с интенсивным механическим воздействием на каждой стадии разбавления [1]. Кратко отметим основные особенности разбавленных водных растворов, которые необходимо принимать во внимание. Обычно рассматриваемая чистая вода является идеальной моделью, но реальная вода, даже в лабораторных исследованиях, является раствором. Традиционно считающееся нерастворимым такое вещество как хлористое серебро, образует насыщенный раствор с концентрацией около  $10^{-5}$  М. Растворенный в воде углекислый газ из атмосферы дает концентрацию бикарбоната  $10^{-5}$  М в нейтральной области pH, что подтверждается экспериментальными данными [2]. Наряду с разнообразными катионами и анионами солей в атмосфере обнаруживают муравьиную и уксусную кислоту не антропогенной природы. Концентрация этих кислот, растворенных в дождевой воде, зависит от сезона и географического положения, и в бразильской Амазонии может превышать 10 мкМ [3]. В свете этих данных нетрудно понять обнаружение различных элементов в сильно разбавленных растворах, приготовленных по технологии итерационного разбавления с интенсивным механическим воздействием, используемой в приготовлении гомеопатических препаратов [4]. Коммерческая вода для хроматографии “Fisher Scientific” гарантирует отсутствие лишь избранных ионов Al, Cd, Cr, Cu, K на уровне 10 ppb, т.е. на уровне  $10^{-8}$ . Чистая вода I класса MQ, обладающая удельным сопротивлением 18,2 МОм•см гарантирует отсутствие углерода на уровне 3 ppb, но указанное сопротивление быстро уменьшается при контакте воды с воздухом за счет растворения углекислого газа. Чистая вода неравновесна и может растворять любые элементы, находящиеся в атмосфере лаборатории в соответствии с законом Генри. При интенсивном механическом воздействии (встряхивание, вибрации, перемешивание) в водных растворах образуются активные формы кислорода и азота, появление которых в присутствии бикарбонатов неизбежно влечет за собой каскад сопряженных цепных электрон-радикальных реакций и изменений окислительно-восстановительного потенциала среды весьма важного для функционирования живых систем [1,5,6].

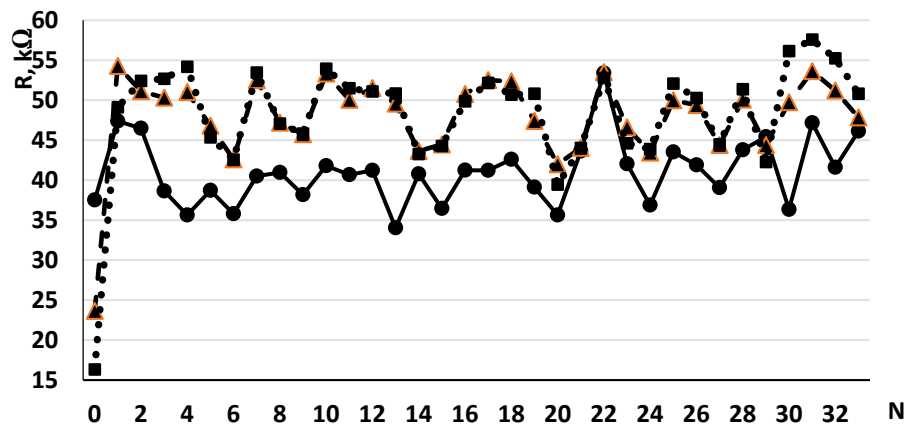
На примере широко распространенного противовоспалительного и анальгезирующего средства – диклофенака нами было обнаружено существование немонотонной зависимости электропроводности водных растворов диклофенака от числа итераций при последовательных сотенных разбавлениях, сопровождающихся активным встряхиванием [7,8]. Такие образцы называют для краткости потенцированными. Измерения электрических характеристик водных растворов проводили с помощью прецизионного анализатора импеданса WK 65120 BD1 (Wayne Kerr Electronics) в кювете с коаксиальными цилиндрическими электродами из титана. Такая конструкция кюветы позволяет быструю эффективную промывку и замену измеряемого образца. Кювета снабжена термостатирующей рубашкой, позволяющей поддерживать с помощью водяного термостата колебания температуры, не превышающие 0,1 °С. Измерения проводили при температуре 25 °С. Небольшие колебания температуры термостата приводили к соответствующим изменениям электрических характеристик образцов.

Регистрацию электрических характеристик проводили при минимальном значении параметров, характеризующих “температурную пилу”, что обеспечивало погрешность не более 0,5%. Более подробно технические детали изложены в работе [7]. Важно отметить отсутствие инкремента диэлектрической проницаемости во всех исследованных растворах, что говорит об отсутствии релаксационных процессов и самоорганизующихся мезочастиц с большими дипольными моментами. Зависимость изучаемой физической характеристики от числа итерационных разбавлений при небольшом числе итераций  $N \leq 11$  (для используемых сотенных разбавлений) можно назвать концентрационной зависимостью, однако, при больших числах  $N$ , понятие концентрации растворяемого вещества теряет смысл и такую зависимость в целом корректно называть паттерном. Немонотонная зависимость электропроводности потенцированных образцов диклофенака наблюдалась также при числе итераций  $N$ , в которых понятие концентрации исходного вещества теряет смысл, что свидетельствует о существенной роли технологии приготовления образцов разбавленных растворов [8]. Еще одной особенностью исследованных образцов оказалось наличие длительной эволюции паттернов сопротивления при сохранении высокой корреляции (выполняется уровень значимости  $\beta \leq 0,001$ ) между паттернами, измеренными через большие интервалы времени, что можно видеть на рисунке 1.

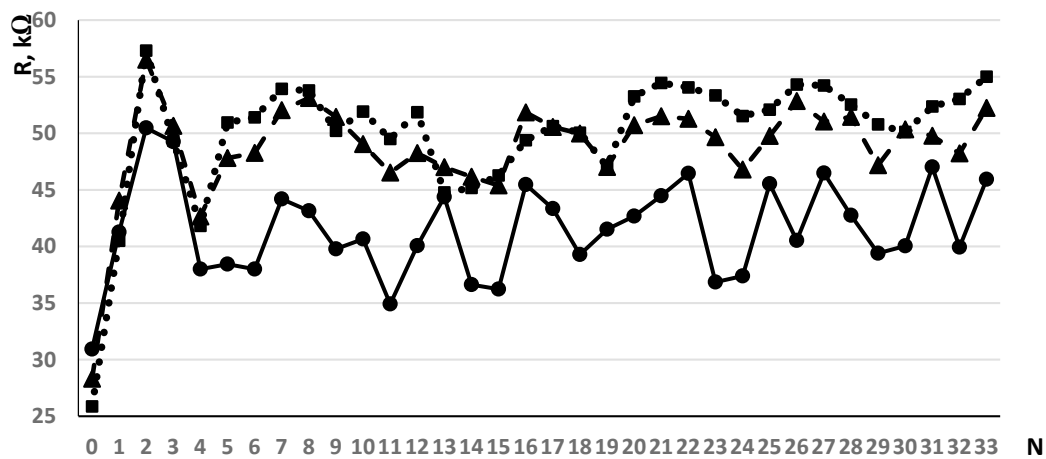
Диклофенак – довольно сложное органическое соединение, имеющее молекулярную массу 296 Да и содержащее два активных электроотрицательных атома хлора. Для выяснения поведения потенцированных растворов более простых молекул были выбраны аминокислоты алифатического ряда – аланин и валин, а для выяснения возможной роли изомерии использовали L и D формы аминокислот. По вышеописанной технологии готовили растворы аминокислот от Sigma-Aldrich: L-аланин (A7627), D-аланин (A7377), L-валин (V0500) и D-валин (V1255). Для разбавления использовали воду MQ. Сначала готовили раствор аминокислоты с концентрацией 0,01 М, соответствующий  $N=0$ . Из этого образца отбирали 0,1 мл, помещали в стеклянный флакон объемом 20 мл и добавляли 9,9 мл воды. Затем этот образец сотенного разбавления подвергали интенсивному встряхиванию и присваивали итерационный номер  $N=1$ . Этот образец имеет концентрацию аминокислоты  $10^{-4}$  М. Следующий образец готовили разбавлением образца  $N1$  с последующей механической обработкой, получая образец  $N2$ . Эту процедуру повторяли многократно и получили ряд  $N$  раз (до  $N=33$ ) разбавленных потенцированных образцов в закрытых флаконах, хранившихся в закрытой картонной коробке в комнатных условиях. Для корректного сравнения электрических характеристик L- и D- аминокислот готовили две параллельных серии образцов, сначала L- $N1$  и D- $N1$ , затем L- $N2$  и D- $N2$ , и т.д., поскольку, как было показано ранее [8,9], немонотонные паттерны электропроводности параллельно приготовленных рядов разбавлений одного и того же вещества очень хорошо коррелируют друг с другом. Хранившиеся образцы через несколько дней снова измеряли для определения длительной эволюции характеристик растворов, связанных с процессами самоорганизации в растворе. Измерения электропроводности проводили на частоте 100 кГц, где влияние двойного электрического слоя на металлических электродах пренебрежимо мало. Эволюция паттернов электрического сопротивления потенцированных растворов L и D аминокислот представлена на рисунках 2-5.



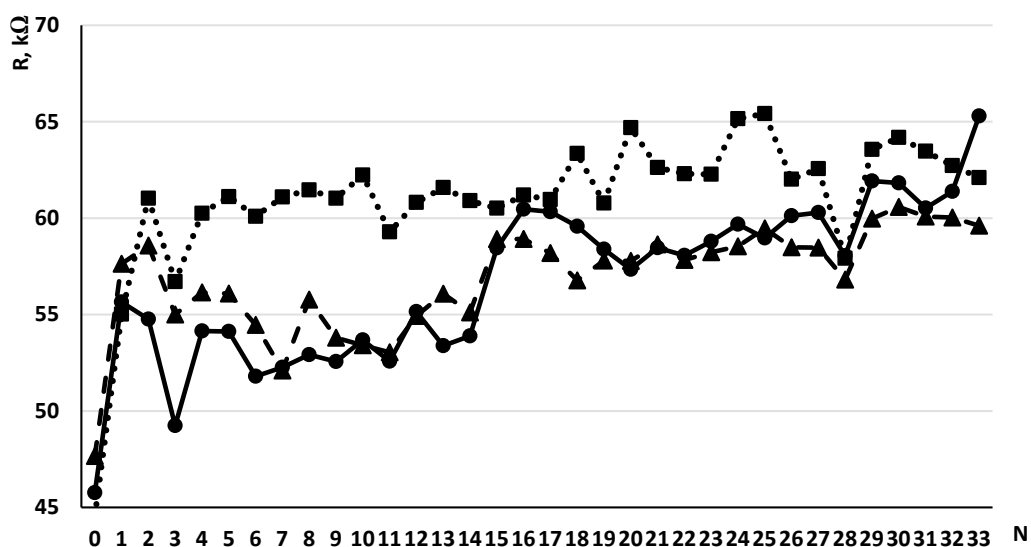
**Рисунок 1.** Эволюция паттернов сопротивления потенцированных образцов растворов диклофенака, где  $N$  – число итераций сотенного разбавления. Экспериментальные точки соединены линиями для наглядности. Интервал времени между приготовлением образцов и измерениями: 1 день – сплошная, 14 дней – пунктирная, 30 дней – точечная линии. Стандартная погрешность не превышает размера точки



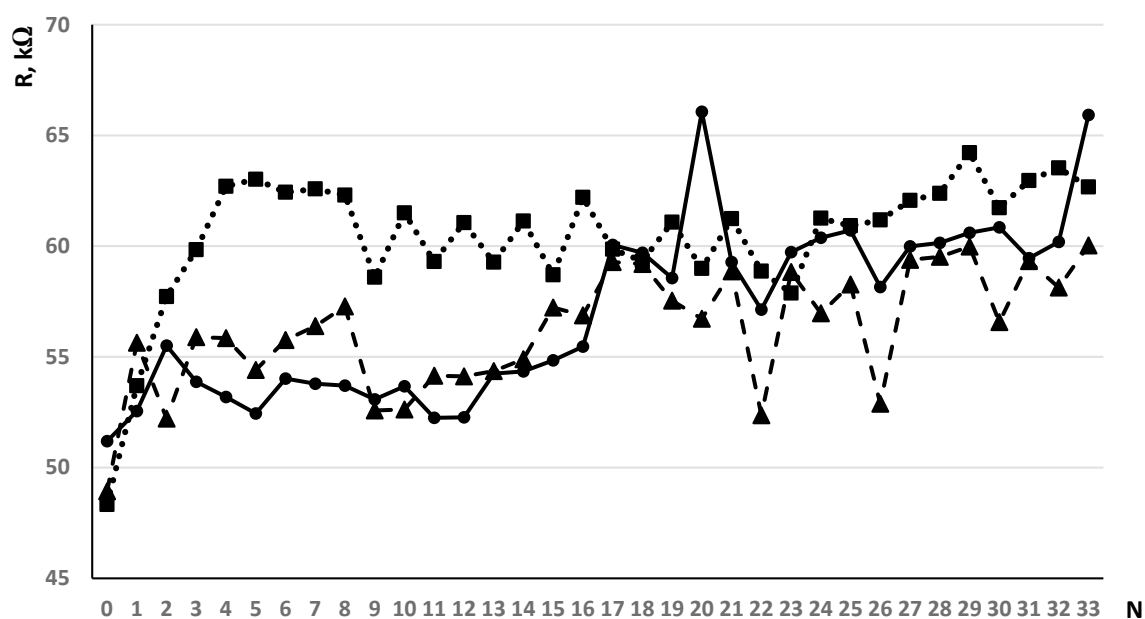
**Рисунок 2.** Эволюция паттернов сопротивления потенцированных образцов растворов L-аланина, где N – число итераций сотенного разбавления. Экспериментальные точки соединены линиями для наглядности. Интервал времени между приготовлением образцов и измерениями: 1 день – сплошная, 7 дней – пунктирная, 14 дней – точечная линии. Стандартная погрешность не превышает размера точки



**Рисунок 3.** Эволюция паттернов сопротивления потенцированных образцов растворов D-аланина, где N – число итераций сотенного разбавления. Экспериментальные точки соединены линиями для наглядности. Интервал времени между приготовлением образцов и измерениями: 1 день – сплошная, 7 дней – пунктирная, 14 дней – точечная линии. Стандартная погрешность не превышает размера точки



**Рисунок 4.** Эволюция паттернов сопротивления потенцированных образцов растворов L-валина, где N – число итераций сотенного разбавления. Экспериментальные точки соединены линиями для наглядности. Интервал времени между приготовлением образцов и измерениями: 2 дня – сплошная, 8 дней – пунктирная, 29 дней – точечная линии. Стандартная погрешность не превышает размера точки



**Рисунок 5.** Эволюция паттернов сопротивления потенцированных образцов растворов D-валина, где  $N$  – число итераций сотенного разбавления. Экспериментальные точки соединены линиями для наглядности. Интервал времени между приготовлением образцов и измерениями: 2 дня – сплошная, 8 дней – пунктирная, 29 дней – точечная линии. Стандартная погрешность не превышает размера точки

Как и в случае растворов диклофенака наблюдается сложная немонотонная зависимость проводимости вплоть до  $N=33$ , где уже при  $N \geq 10$  понятие концентрации растворяемого вещества теряет смысл, что означает несомненную роль технологии приготовления образцов. Отсутствует также инкремент диэлектрической проницаемости во всем диапазоне разбавлений, а вариации диэлектрической проницаемости образцов во времени не превышают 0,1% и являются случайными. Рассчитаны коэффициенты линейной корреляции между паттернами сопротивления образцов L и D аминокислот для разных интервалов количества итераций  $N$  и разных сроков хранения образцов после их приготовления. Результаты представлены в таблицах 1 и 2.

Для оценки там же представлены критические значения коэффициентов корреляции для разных уровней значимости и соответствующего количества экспериментальных точек. Можно видеть, что при сравнении паттернов одинаковых образцов, измеренных в разное время хранения, сохраняется высокая корреляция, удовлетворяющая уровню значимости 0,001. Исключение составляет серия образцов аланина в интервале хранения от одного до 7 дней, где наличие корреляции удовлетворяет уровню значимости 0,05. Этот результат свидетельствует о том, что наблюдаемая немонотонная зависимость не случайна и зависит от процедуры приготовления образцов, испытывающих последующие процессы самоорганизации. Из таблицы 2 видно, что корреляция между паттернами L и D изомеров аминокислот высока и соответствует уровню значимости 0,01, что говорит об отсутствии различий электрических характеристик при использованной технологии разбавления. При больших  $N$  (20-33) корреляция становится незначимой, а результат потенцирования не зависит от исходно

**Таблица 1.** Коэффициенты корреляции между паттернами изомеров аминокислот, зарегистрированными при разных сроках хранения в интервале  $N = 0 - 33$

изомеры	аланин		валин		Критические значения для разных уровней значимости		
	1-7 дней	7-14 дней	2-8 дней	8-29 дней	R 0,05	R 0,01	R 0,001
L - L	0,41	0,95	0,88	0,69	0,34	0,44	0,54
D - D	0,71	0,93	0,67	0,55	0,34	0,44	0,54

**Таблица 2.** Коэффициенты корреляции между паттернами для L и D изомеров аминокислот

интервал N	аланин			валин			Критические значения для разных уровней значимости		
	1 день	7 дней	14 дней	2 дня	8 дней	29 дней	R 0,05	R 0,01	R 0,001
0-33	0,43	0,64	0,59	0,80	0,65	0,73	0,34	0,44	0,54
0-12	0,47	0,73	0,76	0,31	0,51	0,89	0,55	0,68	0,80
20-33	0,50	0,21	0,14	0,34	0,24	-0,12	0,53	0,66	0,78

растворяемого вещества. Тем не менее, интенсивное перемешивание приводит к изменению электропроводности водных растворов.

Существенное отличие от всех предыдущих исследований [7-10] состоит в качественно иной эволюционной траектории образцов с растворами аминокислот. Среднее значение электропроводности не возрастало со временем, как в образцах растворов диклофенака, чистой воды, тяжелой воды, растворов глицерина, но уменьшалась, что полностью противоречит возможности растворения ионов стекла в хранящихся образцах и дополнительного насыщения образцов углекислым газом при открывании флаконов для отбора проб при измерениях. Более подробная информация будет получена при непосредственной регистрации активных форм кислорода.

#### Список литературы / References:

1. Лобышев В.И. О проблеме влияния малых концентраций на биологическую активность. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, изд. Севастопольский государственный университет (Севастополь), 2020, т. 5, № 3, с. 390-398. [Lobyshev V.I. On the problem of low concentrations on biological activity. *Russian Journal of Biological Physics And Chemistry*, 2020, vol. 5, no. 3, pp. 390-398. (In Russ.)]
2. Xibo Yan, Delgado M., Aubry J., Gribelin O., Stocco A., Da Cruz F.B., Bernard J., Ganachaud F. Central Role of Bicarbonate Anions in Charging Water/Hydrophobic Interfaces. *J. Phys. Chem. Lett.*, 2018, vol. 9, pp. 96-103, doi: 10.1021/acs.jpcclett.7b02993.
3. Khare P., Kumar N., Kumari K.M., Srivastava S.S. Atmospheric formic and acetic acid: an overview. *Reviews of Geophysics*, 1999, vol. 37, no. 2, pp. 227-248.
4. Rajendran E.S. *Nanodynamics*. Mohna Publ., Kerala, India, 2015.
5. Bruskov V.I., Chernikov A.V., Ivanov V.E., Karmanova E.E., Gudkov S.V. Formation of the reactive species of oxygen, nitrogen, and carbon dioxide in aqueous solutions under physical impacts. *Phys. Wave Phenom.*, 2020, vol. 28, no. 2, pp. 103-106, doi: 10.3103/s1541308x2002003x.
6. Gudkov S.V., Nikita V., Penkov N.V., Baimler I.V., Lyakhov G.A., Pustovoy V.I., Simakin A.V., Sarimov R.M., Scherbakov I.A. Effect of Mechanical Shaking on the Physicochemical Properties of Aqueous Solutions. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, vol. 21, p. 8033, doi: 10.3390/ijms21218033.
7. Lobyshev V.I. Dielectric Characteristics of Highly Diluted Aqueous Diclofenac Solutions in the Frequency Range of 20 Hz to 10 MHz. *Physics of Wave Phenomena*, 2019, vol. 27, no. 2, pp. 119-127. doi: 10.3103/S1541308X19020067.
8. Lobyshev V.I. Non-monotonous impedance patterns of diclofenac centesimal potentiated solutions and their evolution. *Water. Special edition*, 2022, doi: 10.14294/WATER.2022.S4.
9. Lobyshev V.I. Evolution of High-Frequency Conductivity of Pure Water Samples Subjected to Mechanical Action: Effect of a Hypomagnetic Field. *Physics of Wave Phenomena*, 2021, vol. 29, no. 2, pp. 98-101, doi: 10.3103/S1541308X21020084.
10. Lobyshev V.I. Electrical Properties of Heavy Water Samples Subjected to Vigorous Shaking during Successive Dilutions. *Physics of Wave Phenomena*, 2022, vol. 30, no. 3, pp. 141-144.

#### CONDUCTIVITY OF AQUEOUS SOLUTIONS OF ALANINE AND VALINE PREPARED BY THE ITERATIVE DILUTION METHOD FOLLOWED BY INTENSIVE MECHANICAL IMPACT

Semenova E.V., Lobyshev V.I.

Lomonosov Moscow State University

Leninskie Gory 1/2, Moscow 119991, Russia; e-mail: lobyshev@yandex.ru

Received 25.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbpcc.2022.0530

**Abstract.** The method of preparation of highly diluted solutions, by iterative dilution accompanied by intense mechanical action is described. The results of high-frequency electrical conductivity and dielectric permittivity of L and D isomers of alanine and valine are presented. The absence of dielectric increment in all samples indicates the absence of mesoparticles with high dielectric permittivity in solutions. A non-monotonic, complex dependence of electrical conductivity on the number of N dilution iterations is recorded. This type of dependence persists at large N, when the concept of the solute concentration loses its meaning, which indicates changes in the composition of aqueous solutions under mechanical impact. Repeated measurements of samples stored in closed vials in closed cardboard boxes at room conditions revealed long-term evolutionary processes in aqueous solutions. The peculiarity of the evolution of the electrical conductivity of alanine and valine solutions, in comparison with the previously studied potentiated diclofenac solutions, consists in a decrease in electrical conductivity over time, which contradicts the additional dissolution of carbon dioxide from the atmosphere when opening vials and dissolving glass. There were no differences in the properties of L and D isomers of alanine and valine solutions.

**Key words:** dilute aqueous solutions, intensive mechanical impact, amino acids, diclofenac, electrical conductivity, reactive oxygen species.