



Стехин А.А., Яковлева Г.В.

Определение в воде пероксидного анион-радикала хемилюминесцентным методом

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 121099, Москва, Россия

Введение. Обоснована необходимость анализа пероксидного анион-радикала в водной среде как основного элемента, выполняющего особую роль в управлении внутренними процессами в организме.

Цели и задачи исследования. Разработка методики определения пероксидного анион-радикала, обеспечивающей метрологические характеристики параметризации его системного гомеостатического действия в биологически значимом диапазоне концентраций в питьевых водах. Задача исследования — изыскание способа и оптимальных условий определения концентрации пероксидного анион-радикала в питьевых водах, отличающихся по своим электрохимическим показателям.

Материалы и методы. Для измерения сверхнизких концентраций перекиси водорода в воде (более 0,1 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$) использовали кинетический хемилюминесцентный анализатор (анализатор жидкостей хемилюминесцентный «ЛИК Универсал»). Параметризация соотношения анион-радикальных и свободномолекулярных форм перекиси водорода в указанном диапазоне её концентраций в воде проводилась методом ВЭЖХ. Для оценки размерных параметров ассоциатов пероксидных анион-радикалов использовался капиллярный криофизический метод, основанный на селекции цепочек самоподобных водных ассоциатов.

Результаты. Установлено, что зависимость интегральной интенсивности хемилюминесценции от концентрации в воде пероксидных анион-радикалов имеет линейный характер только в диапазоне концентрации пероксидов 0–40 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. При этом время достижения максимальной интенсивности свечения зависит от концентрации пероксидного анион-радикала в воде. Исследованием размерных параметров ассоциатов пероксидных анион-радикалов от содержания перекиси водорода в воде установлено, что в диапазоне сверхнизких концентраций они практически не изменяются в течение достаточно длительного времени, что связано со стабильностью изомерии молекул воды в данном концентрационном диапазоне.

Ограничения исследования. Объекты, состав, количественные пределы и условия измерения пероксидного анион-радикала с использованием настоящей методики распространяются на питьевые воды, качество и методы контроля которых регламентируются нормативными документами международного сообщества.

Заключение. Разработан способ оценки содержания пероксидного анион-радикала в воде на основе использования кинетического метода хемилюминесценции с чувствительностью порядка 10^{-1} $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ в малых объёмах воды (50–200 мкл), обладающий достаточной точностью и воспроизводимостью для практических целей.

Ключевые слова: системный гомеостаз; фаза ассоциированной воды; пероксидный анион-радикал; перекись водорода; хемилюминесценция

Соблюдение этических стандартов. Исследование не требует представления заключения комитета по биомедицинской этике или иных документов.

Для цитирования: Стехин А.А., Яковлева Г.В. Определение в воде пероксидного анион-радикала хемилюминесцентным методом. *Гигиена и санитария*. 2023; 102(2): 191–196. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-2-191-196> <https://elibrary.ru/pazzp>

Для корреспонденции: Стехин Анатолий Александрович, канд. техн. наук, вед. науч. сотр., ФГБУ «НМИЦ реабилитации и курортологии» МЗ РФ, 121099, Москва. E-mail: Stekhin-aa@mail.ru

Участие авторов: Стехин А.А. — дизайн исследования, проверка критически важного содержания, написание текста, утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи; Яковлева Г.В. — обработка данных, обзор данных литературы по теме статьи, научное редактирование.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила: 26.07.2022 / Принята к печати: 08.12.2022 / Опубликовано: 25.03.2023

Anatoly A. Stekhin, Galina V. Yakovleva

Determination of the peroxide anion radical in water by the chemiluminescent method

National Medical Research Center for Rehabilitation and Balneology of the Russian Health Ministry, Moscow, 121099, Russian Federation

Introduction. The necessity of the analysis of peroxide anion radicals in the aqueous medium as the main element performing a special role in the management of internal processes in the body is substantiated.

Goals and objectives of the study. Creation of methodological support for the determination of a superoxide anion radical in drinking waters, providing metrological characteristics of parameterization of its systemic homeostatic action in a biologically significant concentration range. The task of the study was to find a method and optimal conditions for determining the concentration of peroxide anion radical in drinking waters that differ in their electrochemical parameters.

Materials and methods. As an analytical instrument for measuring ultra-low concentrations of hydrogen peroxide in water (more than 0.1 $\mu\text{g}/\text{l}$), a kinetic chemiluminescent analyzer was used (liquid chemiluminescent analyzer “LIK Universal”, TU 9443-001-42844321-03.) Parameterization of the ratio of anion-radical and free molecular forms of hydrogen peroxide in the specified range of its concentrations in water was carried out by HPLC. A capillary cryophysical method based on the selection of chains of self-similar aqueous associates was used to estimate the dimensional parameters of the associates of peroxide anion radicals.

Results. The dependence of the integral chemiluminescence intensity on the concentration of superoxide anion radicals in water was established to be linear only in the range of peroxide concentrations from 0 to 40 $\mu\text{g}/\text{l}$. At the same time, the time to reach the maximum intensity of the glow depends on the concentration of the peroxide anion radical in water. By studying the dimensional parameters of associates of peroxide anion radicals from the content of hydrogen peroxide in water, it was found that in the range of ultra-low concentrations they practically do not change for a sufficiently long time, which is due to the stability of the isomerism of water molecules in this concentration range.

Limitations. The objects, composition, quantitative limits and conditions for measuring anion radical peroxide using this technique apply to drinking water, the quality and control methods of which are regulated by regulatory documents of the international community.

Conclusion. A method for estimating the content of peroxide-anion radical in water based on the use of a kinetic chemiluminescence method with a sensitivity of about 10–1 µg/l in small volumes of water (50–200 µl) has been developed, which has sufficient accuracy and reproducibility for practical purposes.

Keywords: systemic homeostasis; associated water phase; peroxide anion radical; hydrogen peroxide; chemiluminescence

Compliance with ethical standards. The study does not require the submission of a biomedical ethics committee opinion or other documents.

For citation: Stekhin A.A., Yakovleva G.V. Determination of the peroxide anion radical in water by the chemiluminescent method. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102(2): 191–196. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-2-191-196> <https://elibrary.ru/pazzpu> (In Russian)

For correspondence: Anatoly A. Stekhin, MD, PhD, Leading Researcher, National Medical Research Center for Rehabilitation and Balneology of the Russian Health Ministry, Moscow, 121099, Russian Federation. E-mail: Stekhin-aa@mail.ru

Information about authors:

Stekhin A.A., <https://orcid.org/0000-0002-8750-0686> Yakovleva G.V., <https://orcid.org/0000-0002-8766-2773>

Contributions: Stekhin A.A. – research design development, verification of critical content, writing of the text, approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article; Yakovleva G.V. – data analysis and interpretation, data processing, review of publications on the topic of the article.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement. The study had no sponsorship.

Received: July 26, 2022 / Accepted: December 8, 2022 / Published: March 25, 2023

Введение

Пероксидные анион-радикалы относятся к наиболее устойчивым кислородным анион-радикальным формам. Их формирование происходит в ассоциированном состоянии воды (униполярно заряженные структуры аморфных льдов) в результате переноса электронов на парамагнитный кислород с последующим диспропорционированием до пероксидного анион-радикала. Пероксидные ассоциаты выполняют особую роль в управлении внутриклеточными процессами, стабилизации гидратных структур и энергообеспечении клетки (внесубстратном синтезе АТФ) [1]. Их регуляторная функция определяется концентрационной зависимостью размерных параметров ассоциатов от содержания пероксидных анион-радикалов (в диапазоне 0–40 µg/дм³), обеспечивающих формирование в сопряжённых областях пространства и времени электрических и магнитных полей, и проявляется в во множестве внутриклеточных метаболических процессов [2]. Это особое качество пероксидных ассоциатов также реализуется в транспортных функциях (везикулярный транспорт, лиганд-рецепторное взаимодействие), демонстрирующих эффекты квантовой нелокальности [1].

Значительное число исследований посвящено биологической роли перекиси водорода, её двойственной природе. С одной стороны, перекись водорода оказывает повреждающее действие на клеточные структуры, с другой – выполняет регуляторные функции [3]. В исследовании [4] получены прямые доказательства того, что низкие (наномольные концентрации) перекиси водорода оказывают влияние на митотическую активность и апоптоз клеток лимфоцитов крови здорового человека. Однако это влияние связано не с концентрацией перекиси водорода в воде, а с размерными параметрами пероксидных ассоциатов, изменяющимися в зависимости от содержания пероксидных анион-радикалов. В диапазоне низких значений концентраций перекиси водорода (менее 40 µg/дм³), которая представлена исключительно анион-радикальной формой соединения, апоптоз клеток находится на стабильно малом уровне (порядка 0,3%), а их репликативная активность линейно возрастает. В области концентрационной фазовой неустойчивости (при [НО₂⁻] = 45 µg/дм³), обусловленной появлением молекулярных форм перекиси водорода в форме кластеров и резким изменением окислительно-восстановительного потенциала [1], и при концентрациях более 45 µg/дм³ апоптотическая активность увеличивается, что оказывает неблагоприятное воздействие на клетку. С апоптотической активностью перекиси водорода сопряжена индукция сигналов тромбоцитарного и эпидермального факторов роста (EGF), трансформирующего фактора роста (TGF-β) и фактора некроза опухолей (TNF-α) [5, 6]. Фактор некроза опухолей TNF-α через образование потенциал-активных

пероксидных анион-радикалов активирует факторы транскрипции Nrf2 или NF-κB и соответственно процессы апоптоза [5–7]. Регуляторное действие пероксидных ассоциатов проявляется и во многих других клеточных процессах. Так, поддержание гомеостаза организма в части его очищения от стареющих и апоптотических клеток осуществляется посредством фагоцитарной функции эффекторных иммунных клеток, инициация которой контролируется пероксидом водорода [8], обеспечивающим кислородом их зарядово-активные распознающие рецепторы, реализующие кислородозависимые механизмы киллинга микроорганизмов. При снижении зарядовой активности распознающих центров макрофагов наблюдается снижение скорости их миграции к месту инфекции и фагоцитарной активности [9]. Пероксидные ассоциаты являются модификаторами биологической структуры и функций лигандов распознавания С-реактивного белка [9].

Таким образом, результаты биофизических исследований свидетельствуют об определяющей роли пероксидных ассоциатов в управлении биохимическими процессами в живых организмах [1]. При этом внешняя среда (в том числе питьевая вода) посредством обменных взаимодействий электронов в составе пероксидных ассоциатов воды является активным участником гомеостатической регуляции систем организма, формирующей его эпигенез, что предопределяет потребность инструментальной оценки этих взаимодействий. В связи с этим возникает необходимость параметризации процессов образования и распада пероксидных анион-радикалов в воде, так как её потребление человеком прямым образом (нелокально) оказывает регуляторное действие на клеточные структуры организма [10, 11]. Однако это действие проявляется при сверхмалых концентрациях пероксидных анион-радикалов в воде (от 0,1 µg/дм³ и выше – до 40 µg/дм³) [12], что определяет требования к чувствительности и диапазону измерения метода определения.

Фотометрические (ГОСТ 32460–2013 «Пероксид водорода. Определение содержания в воде») и хроматографические [13] методы определения перекиси водорода в воде, существующие при субмикромольных концентрациях в форме ассоциатов пероксидных анион-радикалов, не позволяют селективно обнаруживать пероксидные анион-радикалы в сверхнизких концентрациях. Кроме того, при использовании хроматографического метода происходит неконтролируемый распад водных ассоциатов при прохождении капиллярной колонки. В отличие от упомянутых выше используемый нами кинетический хемилуминесцентный метод, основанный на быстром диспергировании пробы, позволяет достигать высокой чувствительности и воспроизводимости обнаружения пероксидных анион-радикалов (0,1 µg/дм³) за минимальный период времени от отбора пробы до начала измерения (порядка 4 с). Достижение высокой

чувствительности метода основано на быстром разложении ассоциатов пероксидных анион-радикалов в сильнощелочной среде люминол-геминового реагента с последующей конверсией энергии образующихся свободных радикалов на активных центрах люминола, вызывая свечение.

Важной особенностью аппаратной реализации метода является использование сверхмалых количеств исследуемой воды в одном измерении (50–200 мкл), что позволяет регистрировать как процессы образования и трансформации одиночных ассоциатов пероксидных анион-радикалов в реальном времени, так и концентрационные неоднородности в воде и периодические процессы переноса электронов.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования использовались водные растворы (дистиллированная вода) с фиксированными значениями концентрации минеральных солей (NaCl, NaHCO₃, степень чистоты – хч) и электропроводности в диапазоне от 3 до 800 мС/см. Для приготовления стандартных растворов использовалась 40%-я перекись водорода по ГОСТ 177–88 и гипомагнитный концентрат на основе дистиллированной воды (пара-вода), обработанной при остаточной плотности магнитного потока 100 нТл по технологии производителя [14]. Контроль содержания перекиси водорода в воде после приготовления растворов осуществлялся фотометрическим методом ($\lambda = 192\text{--}193$ нм), в растворах солей и дистиллированной воде – по ГОСТ 32460–2013, а также методом ВЭЖХ [5]. Определение электрохимических показателей (рН, электропроводность, температура) осуществлялось с использованием приборов «Экотест 120» (Россия) и WTW InoLab (Германия). Размерные параметры ассоциатов определялись капиллярным криофизическим методом. В качестве аналитического прибора для измерения сверхнизких концентраций перекиси водорода в воде (более 0,1 мкг/дм³) использовался кинетический хемилюминесцентный анализатор (анализатор жидкостей хемилюминесцентный «ЛИК Универсал», ТУ 9443–001–42844321–03) [12].

Результаты

Распад пероксидных ассоциатов в сильнощелочной среде хемилюминесцентного реагента (раствор люминола в щелочи, рН 11,5 ед.) характеризуется нарастающей ветвью интенсивности свечения, которая после достижения максимальной величины излучения медленно спадает до нуля во времени порядка 100 с. Концентрационная зависимость интегрального потока фотонов хемилюминесценции за полную экспозицию – 100 с (светосумма) аппроксимируется линейной зависимостью (рис. 1). При этом время достижения максимальной интенсивности свечения (t_m) зависит от концентрации пероксидных анион-радикалов водорода в воде, что отражает концентрационные изменения размерных параметров ассоциатов. При более высоких значениях концентрации пероксидных анион-радикалов в воде линейность зависимости сильно искажается, что связано с концентрационным фазовым переходом (при концентрации 45 мкг/дм³) и появлением молекулярной перекиси водорода в форме кластеров (димеров, тримеров) [12].

Параметры пероксидных ассоциатов также зависят от изомерии молекул воды в составе аморфной фазы воды ассоциатов, в которых они остаются стабильными в течение продолжительного времени [2]. Уравнение калибровочной кривой может незначительно отличаться в зависимости от изомерии молекул воды (соотношения орто- и пара-изомеров водорода в молекулах воды) в ассоциатах, изменяющейся в электрических и магнитных полях. На рис. 2 приведена концентрационная зависимость интенсивности свечения и времени достижения максимальной интенсивности излучения (t_m , с) для нормальной изомерии атомов водорода в молекулах воды в составе ассоциатов и при обогащении ассоциатов пара-изомерами (с нулевым спином атомов водорода).

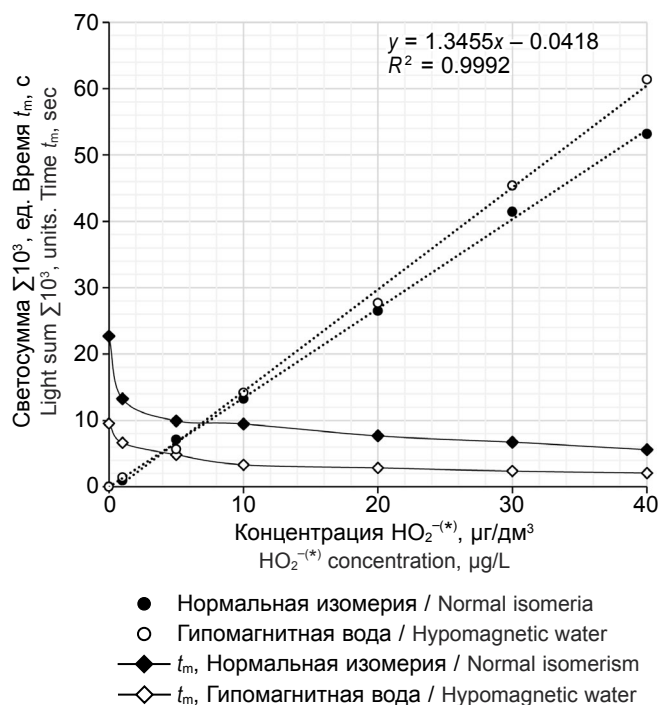


Рис. 1. Концентрационная зависимость интенсивности свечения (светосуммы в третьей степени, отн. ед.) и времени достижения максимальной интенсивности излучения (t_m , с) для нормальной изомерии атомов водорода в молекулах воды в составе ассоциатов и при обогащении ассоциатов пара-изомерами (дистиллированная вода, активируемая в гипомагнитных условиях) [2].

Fig. 1. Concentration dependence of the luminescence intensity (light sum in the third degree, relative units) and the time to reach the maximum radiation intensity (t_m , sec) for normal isomerism of hydrogen atoms in water molecules as part of associates and when associates are enriched with para-isomers (distilled water activated under hypomagnetic conditions) [2].

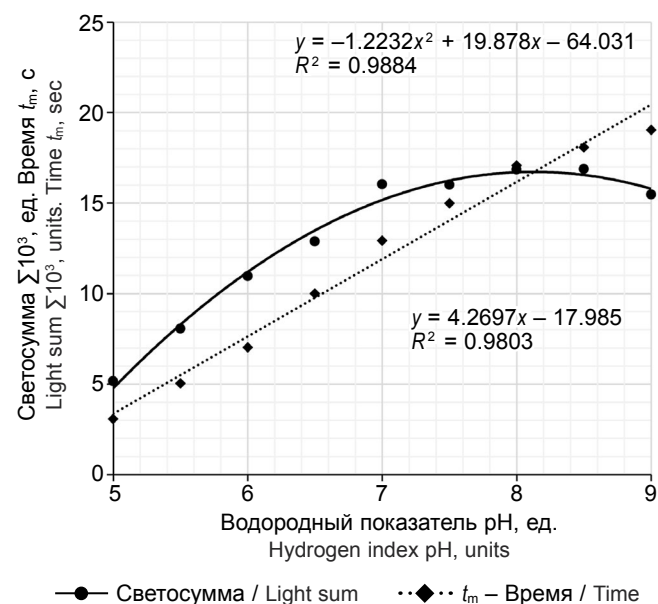


Рис. 2. Зависимость интенсивности свечения (светосуммы) и времени t_m хемилюминесценции раствора перекиси водорода в воде (исходная вода – дистиллят) в концентрации 10 мкг/дм³ от водородного показателя воды.

Fig. 2. Dependence of the luminescence intensity (light sum) and the time t_m of chemiluminescence of a hydrogen peroxide solution in water (source water – distillate) at a concentration of 10 μg/L on the hydrogen index of water.

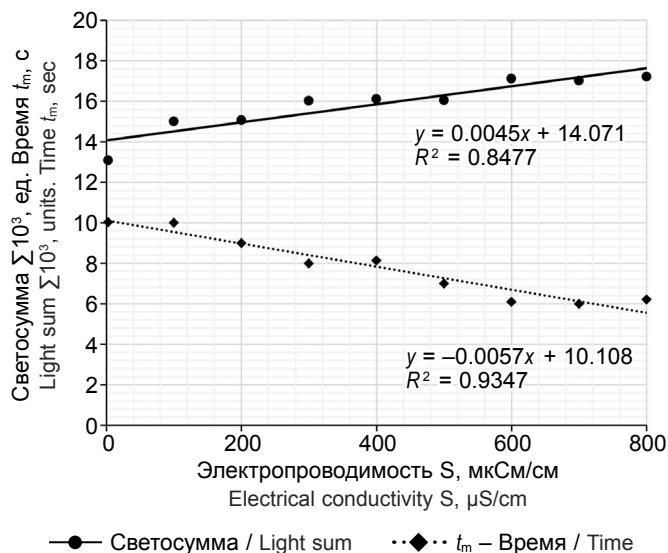


Рис. 3. Зависимость интенсивности свечения (светосуммы) и времени t_m хемилюминесценции раствора перекиси водорода в воде (исходная вода – дистиллят) в концентрации 10 $\mu\text{г}/\text{дм}^3$ от степени минерализации воды.

Fig. 3. Dependence of the luminescence intensity (light sum) and the time t_m of chemiluminescence of a hydrogen peroxide solution in water (source water – distillate) at a concentration of 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ on the degree of water mineralization.

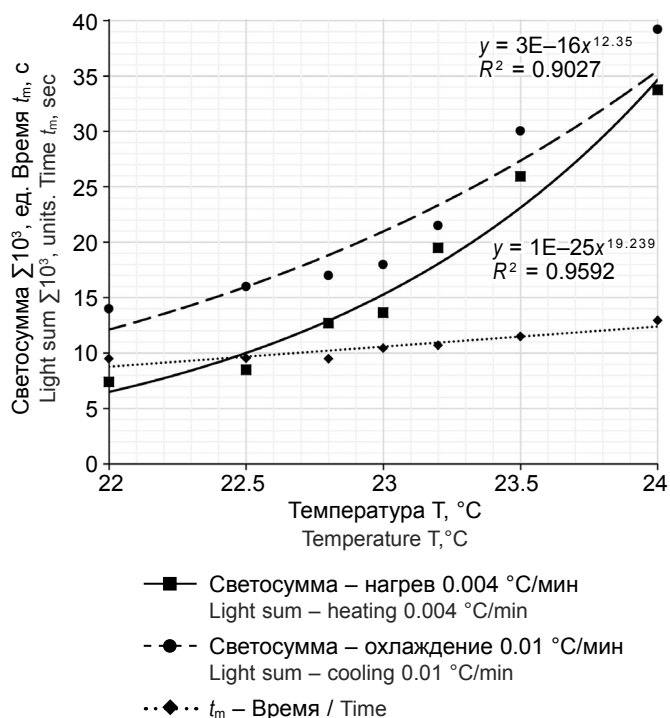


Рис. 4. Зависимость интенсивности свечения (светосуммы) и времени t_m хемилюминесценции раствора перекиси водорода в воде (исходная вода – дистиллят) в концентрации 10 $\mu\text{г}/\text{л}$ от температуры воздуха в лабораторном помещении (при её медленном изменении – росте или падении).

Fig. 4. Dependence of the luminescence intensity (light sum) and the time t_m of chemiluminescence of a hydrogen peroxide solution in water (source water – distillate) at a concentration of 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ on the air temperature in the laboratory room (with its slow change – growth or fall).

Как следует из приведённой зависимости, при отклонении изомерии молекул воды в ассоциатах (гипомагнитная вода) наблюдается отклонение от нормального распределения между орто- и пара-водой. Подобное отклонение вызвано уменьшением размерных параметров пероксидных ассоциатов и, как следствие, увеличением выхода фотонов хемилюминесценции вследствие облегчённой релаксации свободных радикалов на центрах люминесценции.

С помощью оценки влияния водородного показателя на хемилюминесценцию установлено, что в сильнощелочных растворах интенсивность свечения снижается и линейная зависимость наблюдается только в диапазоне рН 5–7 ед. (см. рис. 2).

Анализ приведённой на рис. 2 зависимости показывает, что в диапазоне рН 6,5–9,0 ед. ошибка измерений не превышает 5%. Следует вводить поправки на значения водородного показателя лишь при рН < 6,5 ед. в соответствии с аппроксимирующей кривой.

В минерализованных водах светосумма хемилюминесценции не испытывает существенных изменений (рис. 3), что практически исключает необходимость внесения соответствующей поправки в результаты измерений.

Наличие температурной зависимости интенсивности свечения хемилюминесценции (рис. 4) – наиболее существенный фактор, оказывающий влияние на метрологические характеристики метода. При медленном повышении температуры проведения измерений в диапазоне 22–24 °С интегральная интенсивность хемилюминесценции (светосумма за 100 с регистрации сигнала) нелинейно увеличивается. При уменьшении температуры в этом же интервале значений наблюдается обратная тенденция – светосумма также нелинейно падает. Однако отмечается гистерезис данной зависимости, обусловленный временным запаздыванием перестройки размерных параметров пероксидных ассоциатов.

Из-за влияния температурного фактора в методику внесены требования по стабилизации температуры в помещении, где проводятся измерения, в пределах $23 \pm 0,2$ °С, что эквивалентно неопределённости 10% в результатах измерения концентрации пероксидных анион-радикалов. В противном случае необходимо вносить в расчёт концентрации температурную поправку. Очевидно, что температурная зависимость сопряжена с увеличением размерных параметров ассоциатов, с которыми связано время t_m достижения максимальной интенсивности хемилюминесценции (см. рис. 4).

Обсуждение

Существующие отечественные и мировые аналоги методов и аппаратуры измерения концентрации пероксидного анион-радикала в воде характеризуются различными аналитическими и приборно-методическими характеристиками. В частности, в [15] описан простой, быстрый и чувствительный спектрофотометрический метод определения пероксида водорода с использованием в качестве реагента толуидинового синего. Однако чувствительность метода (6,6 $\mu\text{г}/\text{дм}^3$) недостаточна для определения пероксидного анион-радикала в питьевых водах.

Метод определения перекиси водорода в воде на основе люминольной хемилюминесцентной спектроскопии, описанный в [16], предполагает использование в анализируемой пробе значительного количества воды (20 см^3), процедуры перемешивания со смесью реагентов (водным раствором люминола и катализатором Co^{2+}), когда рН смеси реагентов составляет 11,0. Длительность процедуры инициации хемилюминесценции во всём объёме пробы (более 10 с) ограничивает аналитические возможности метода по причине неконтролируемого распада пероксидных анион-радикалов в первые секунды после внесения реагента.

Другое перспективное направление определения пероксидных анион-радикалов в воде основано на использовании сенсорного детектирования с применением колориметри-

ческих [17, 18], хемилюминесцентных [16], электрохимических [19, 20], электрохемилюминесцентных [21] методов. Среди них следует выделить сенсор на основе наночастиц серебра (AgNP) [18], вызывающих каталитическое разложение перекиси водорода (чувствительность детектирования составляет $0,46 \text{ мкг/дм}^3$), что приближается к требуемому пределу детектирования ($0,1 \text{ мкг/л}$). Сенсор из сплава PtNi/пластины CeO_2/N -легированные углеродные нановолокна (PtNi/CeO₂/NCNF) [19] с пределом обнаружения H₂O₂ $0,83 \text{ мкг/дм}^3$ обладает превосходной воспроизводимостью и хорошей стабильностью, но обладает тем же недостатком, как и предыдущий. Электрохемилюминесцентный сенсор [21] показывает линейную зависимость в очень широком диапазоне концентраций перекиси водорода (от $5,0 \cdot 10^{-16}$ до $5,0 \cdot 10^{-5}$ М) в оптимальных условиях осуществления измерений, поэтому с учётом широкого диапазона изменений электрохимических показателей питьевых и минеральных вод требуется изучение селективности детектирования анион-радикальной формы перекиси водорода этим методом. Эти же ограничения распространяются и на чувствительный, селективный и стабильный электрохимический сенсор для определения перекиси водорода с использованием биметаллических наночастиц нафтона (Nf) и Pd-Ag, нанесённых на (3-Аминопропил) триэтоксисилан [20].

При определении приборно-методических аспектов использования различных методов детектирования также необходимо исходить из того, что при физической активации воды содержание пероксидных анион-радикалов зависит от обменных электронных процессов с окружающей средой [2, 10, 11], в результате которых во времени возникают концентрационные всплески и варибельность концентрации пероксидного анион-радикала во времени. Их интенсивность зависит как от степени физического возбуждения воды, так и от электрон-донорной активности взаимодействующих с исследуемой водой объектов. Эти явления являются чисто квантовыми, и именно они составляют

базис гомеостатической регуляции организма [22]. Более того, в электрохимически активных водах имеет место поляризация электродов, что существенно ограничивает возможности использования сенсорных методов регистрации пероксидного анион-радикала в воде. В связи с этим кинетический хемилюминесцентный метод со сверхбыстрым диспергированием пробы может быть отнесён к уникальному инструменту регистрации неустойчивых анион-радикальных форм кислорода в составе ассоциатов и обменных электронных взаимодействий (изменений концентрации во времени), которые определяют биологическую активность воды.

Заключение

Разработан обладающий достаточной точностью и воспроизводимостью для практических целей способ оценки содержания пероксидного анион-радикала в воде на основе использования кинетического метода хемилюминесценции с чувствительностью порядка 10^{-1} мкг/дм^3 в малых объёмах воды (50–200 мкл). Для исключения влияния на результаты анализа температурного фактора измерения проводятся при стабильной температуре в пределах $23 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$. Погрешность метода составляет 15–20%.

При анализе пероксидных анион-радикалов методом кинетической хемилюминесценции вода объёмом 50–100 мкл помещается в ячейку дозатора прибора и нажатием на крышку дозатора быстро вводится в щелочной раствор люминола (рН 11,5 ед.). При этом процесс инициирования реакции протекает в течение 0,01 с. Через 100 с фиксируются результаты измерений в виде интегральной интенсивности за экспозицию, времени достижения максимума интенсивности, которые служат для определения концентрации пероксидного анион-радикала в воде и оценки относительных изменений размерных параметров пероксидных ассоциатов.

Литература

(п.п. 3, 5–9, 11, 15–22 см. References)

1. Фаращук Н.Ф., Рахманин Ю.А. *Вода – структурная основа адаптации*. М.; 2004.
2. Стехин А.А., Яковлева Г.В. *Квантовое поведение воды: Свойства электронной подсистемы ассоциатов воды. Электронный дефицит как фактор риска здоровью*. М.: Ленанд; 2019.
4. Зацепина О.В., Ингель Ф.И., Стехин А.А., Яковлева Г.В. Влияние физической активированной воды на репликативную активность, апоптоз и повреждение клеток лимфоцитов крови человека *in vitro*. *Жизнь без опасностей. Здоровье. Профилактика. Долголетие*. 2013; 8(3): 44–55.
10. Стехин А.А., Яковлева Г.В., Марасанов А.В., Карасев А.К., Иксанова Т.И., Шовкопляс Ю.А. и др. Обменные электронные взаимодействия как основа биофизических регуляторных процессов. *Медицина и высокие технологии*. 2019; (1): 5–15.
12. Рахманин Ю.А., Стехин А.А., Яковлева Г.В. *Биофизика воды: Квантовая нелокальность в технологиях водоподготовки; регуляторная роль ассоциированной воды в клеточном метаболизме; нормирование биоэнергетической активности питьевой воды*. М.: Ленанд; 2016.
13. Кулагин М.В., Яковлева Г.В., Стехин А.А., Гукасов В.М., Шовкопляс Ю.А. Параметризация фазы ассоциированной воды с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Медицина и высокие технологии*. 2018; (4): 33–43.
14. Гиберт К.К., Стехин А.А., Яковлева Г.В., Сульина Ю.С. Сохранение электроннодонорных свойств питьевой воды. *Гигиена и санитария*. 2015; 94(3): 97–100.

References

1. Farashchuk N.F., Rakhmanin Yu.A. *Water – the Structural Basis of Adaptation [Voda – strukturalnaya osnova adaptatsii]*. Moscow; 2004. (in Russian)
2. Stekhin A.A., Yakovleva G.V. *Quantum Behavior of Water: Properties of the Electronic Subsystem of Water Associates. Electronic Deficiency as a Health Risk Factor [Kvantovoe povedenie vody: Svoystva elektronnoy podsystemy assotsiativ vody. Elektronnyy defitsit kak faktor riska zdorov'yu]*. Moscow: Lenand; 2019. (in Russian)
3. Ko D., Park J., Zhang X. Collective synchronization of classical and quantum oscillators. *EMS Surv. Math. Sci.* 2016; 3(2): 209–67. <https://doi.org/10.4171/EMSS/17>
4. Zatssepina O.V., Ingel' F.I., Stekhin A.A., Yakovleva G.V. The influence of activated water on replicative activity and apoptosis of human blood lymphocytes *in vivo*. *Zhizn' bez opasnostey. Zdorov'e. Profilaktika. Dolgoletie*. 2013; 8(3): 44–55. (in Russian)
5. Verresen R., Moessner R., Pollmann F. Avoided quasiparticle decay from strong quantum interactions. *Nat. Phys.* 2019; 15(8): 750–3. <https://doi.org/10.1038/s41567-019-0535-3>
6. Sanders C.R. Membrane Protein Folding. In: *Gordon Research Conference «The Emerging Frontier Spanning Cell Biology and Biophysics of Interfacial Biomolecular Assembly»*. Washington Street Easton, MA, US; 2019.
7. Benedetto A. Protein and hydration-water dynamics are decoupled: A new model connecting dynamics and biochemical function is required. *J. Phys. Chem. Lett.* 2017; 8: 4883. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcclett.7b02273>
8. Reva I.V., Yamamoto T., Gulkov A.N., Takafyji Y., Baldaev C.N., Indik M.V., et al. Biological and chemical effects by endo- and exogenous hydrogen peroxide in human body cells structures. *Int. J. Appl. Fund. Res.* 2017; 4: 361–7.
9. Adams L., Franco M.C., Estevez A.G. Reactive nitrogen species in cellular signaling. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 2015; 240(6): 711–7. <https://doi.org/10.1177/1535370215581314>
10. Stekhin A.A., Yakovleva T.V., Marasanov A.V., Karasev A.K., Iksanova T.I., Shovkoplyas Yu.A., et al. Exchange electronic interactions as a basis for biophysical regulatory processes. *Meditsina i vysokie tekhnologii*. 2019; (1): 5–15. (in Russian)
11. Tatarinov V.V., Yakovleva G.V., Tatarinov V.V. Exchange electronic interactions as the main factor of maintaining the sustainability of organism homeostasis. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 864, No. 1, p. 012008)*. IOP Publishing; 2021. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/864/1/012008>

12. Rakhmanin Yu.A., Stekhin A.A., Yakovleva G.V. *Biophysics of Water: Quantum Nonlocality in Water Treatment Technologies; Regulatory Role of Associated Water in Cellular Metabolism; Normalization of Bioenergetic Activity of Drinking Water [Biofizika vody: Kvantovaya nelokal'nost' v tekhnologiyakh vodopodgotovki; regulatornaya rol' assotsirovannoy vody v kletochnom metabolizme; normirovanie bioenergeticheskoy aktivnosti pit'evoy vody]*. Moscow: Lenand; 2016. (in Russian)
13. Kulagin M.V., Yakovleva G.V., Stekhin A.A., Gukasov V.M., Shovkoplyas Yu.A. Parametrization of the associated water phase using high-performance liquid chromatography. *Meditsina i vysokie tekhnologii*. 2018; (4): 33–43. (in Russian)
14. Gibert K.K., Stekhin A.A., Yakovleva G.V., Sul'ina Yu.S. Keeping the electron-donor properties of drinking water. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2015; 94(3): 97–100. (in Russian)
15. Sunil K., Narayana B. Spectrophotometric determination of hydrogen peroxide in water and cream samples. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2008; 81(4): 422–6. <https://doi.org/10.1007/s00128-008-9477-7>
16. Yamashiro N., Uchida S., Satoh Y., Morichima Y., Yokoyama H., Satoh T. Determination of hydrogen peroxide in water by chemiluminescence detection. *J. Nucl. Sci. Technol.* 2004; 41(9): 890–97. <https://doi.org/10.1080/18811248.2004.9715561>
17. Choleva T.G., Gatselou V.A., Tsogas G.Z., Giokas D.L. Intrinsic peroxidase-like activity of rhodium nanoparticles, and their application to the colorimetric determination of hydrogen peroxide and glucose. *Microchim. Acta*. 2018; 185(1): 22. <https://doi.org/10.1007/s00604-017-2582-8>
18. Teodoro K.B.R., Migliorini F.L., Christinelli W.A., Correa D.S. Detection of hydrogen peroxide (H₂O₂) using a colorimetric sensor based on cellulose nanowhiskers and silver nanoparticles. *Carbohydr. Polym.* 2019; 212: 235–41. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.053>
19. Guan H., Zhang J., Liu Y., Zhao Y., Zhang B. Rapid quantitative determination of hydrogen peroxide using an electrochemical sensor based on PtNi alloy/CeO₂ plates embedded in N-doped carbon nanofibers. *Electrochimica Acta*. 2019; 295: 997–1005. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.11.126>
20. Guler M., Turkoglu V., Bulut A., Zahmakiran M. Electrochemical sensing of hydrogen peroxide using Pd@Ag bimetallic nanoparticles decorated functionalized reduced graphene oxide. *Electrochimica Acta*. 2018; 263: 118–26. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.01.048>
21. Karimi A., Husain S.W., Hosseini M., Aberoomand Azar P., Ganjali M.R. Rapid and sensitive detection of hydrogen peroxide in milk by Enzyme-free electrochemiluminescence sensor based on a polypyrrole-cerium oxide nanocomposite. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2018; 271: 90–6. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.05.066>
22. Stekhin A., Yakovleva G., Pronko K., Zemskov V. Regulatory function of macroscopic quantum states of electrons in cell metabolism. *Clin. Practice*. 2018; 15(3): 707–15. <https://doi.org/10.4172/clinical-practice.1000399>