

УДК 577.3

ПРИМЕНЕНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ И АКУСТИЧЕСКИХ ВОЛН НА МИКРОВОДОРОСЛИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ РЕЗОНАНСНЫХ ЧАСТОТ

Колесников В.Г., Древаль Н.В.

Институт радиофизики и электроники им. А. Я Усикова НАН Украины, Харьков, Украина
e-mail: kolesnik@ire.kharkov.ua

Поступила в редакцию 19.03.2010

Проведено исследование комбинированного воздействия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона (ЭМИ мм-диапазона) ($f = 37,5$ ГГц, $P = 10$ мВт/см²) и акустических волн ($f = 1000 \div 4000$ Гц, $P_{\text{среднее}} < 7$ мВт/см²), на суспензию микроводорослей, взятых из открытых водоёмов Харьковской области, для определения резонансных частот.

Ключевые слова: резонанс, микроводоросли, ЭМИ мм-диапазона, пьезо-элемент, акустическое воздействие, гидратация.

ВВЕДЕНИЕ

Жизнедеятельность живых систем разных уровней организации от простейших, бактерий, вирусов до организма человека сопровождается различными видами волновых процессов электромагнитного и акустического характера. Основными источниками электрических и электромагнитных полей в биологической системе является нервная, мышечная, а также метаболическая активность. Зная частоты метаболической активности тех или иных агентов, можно воздействовать на них частотными колебаниями, которые будут нарушать их собственные ритмы и тем самым подавлять их нормальную метаболическую активность. На основании многочисленных экспериментов была накоплена информация о резонансных частотах различных микроорганизмов, включая, бактерии и вирусы; большинство частот лежат в кило- и мегагерцовом диапазоне [1, 2]. Этот подход, несмотря на неоднозначность положительных и отрицательных моментов его применения, используется в терапии заболеваний, патогенез которых связан с разного рода инфекциями.

Акустическое управление отдельными, или группой клеток является широкой областью исследования с возможным практическим приложением, например, в медицине, для ускорения проведения серологических реакций, реакции агглютинации, проведения иммуносуппензионного анализа. Первичным механизмом действия звуковых и ультразвуковых колебаний является перераспределение клеток в объеме под действием сил, действующих в акустическом поле на клетки в целом

и вступающих с ними в механический резонанс [3,4], или на отдельные мембранные структуры, например рецепторные комплексы [5] или липидный бислой [6].

Резонансные частоты, на которых вода и биоткани являются относительно «прозрачными» для мм-радиоволн, известны и составляют 50 ГГц, 65 ГГц, 100 ГГц, 130 ГГц [7, 8]. Резонансные частоты интенсивно исследуются в дальнем инфракрасном, или терагерцовом диапазоне радиоволн, который интересен по причине наличия в нем линий поглощений, обусловленных колебательными и вращательными модами атомов белковых молекул вещества [9, 10], а также межмолекулярных колебаний водородных связей в биологической системе [11, 12]. Эксперименты, проведенные на суспензии эритроцитов и плазме крови, показали, что резонансное взаимодействие ЭМИ терагерцового диапазона при несущей частоте $f = 0,89$ ТГц находится в области модуляции частот больших чем 500 Гц [13].

Под резонансом обычно понимают увеличение отклика биологической системы при различных периодических воздействиях имеющих материальную природу. Под откликом биологической системы мы понимаем увеличение/уменьшение процессов жизнедеятельности (например, фотосинтез, для микроводорослей) биологических систем разных уровней организации. Результат этого взаимодействия фиксируется с помощью измерительно-регистрирующего комплекса в области дисперсии диэлектрической проницаемости свободной воды, приходящейся на мм-диапазон радиоволн ($f = 10 \div 50$ ГГц). Периодическое воздействие (механическое, тепловое, электромагнитное, гравитационное и т.д.),

вызывающее реакцию в биологической системе достаточно высокого уровня организации живого и фиксируемое по соотношению количества связанной и свободной воды, может служить индикатором состояния этой системы. Основываясь на том факте, что фотосинтетическая активность водорослей тесно связана с состоянием воды в клетке и уровнем гидратации клеточных структур [14, 15], состояние этой живой системы определяется как «дискомфорт» при увеличении свободной воды и, соответственно, увеличение связанной воды определяется, как «комфорт».

Поэтому целью настоящей работы является выявление резонансных частот путем применения комбинированного воздействия ЭМИ мм-диапазона и акустических волн на микроводоросли.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для решения поставленной цели нами был модернизирован аппаратно-регистрирующий комплекс [16] специально под задачу поиска резонансных частот биологической системы микроводорослей при комбинированном воздействии волн электромагнитного и акустического диапазонов, путём введения специально разработанной измерительной кюветы, расположенной на пьезо-элементе, в 8-мм волноводный тракт (рис. 1).

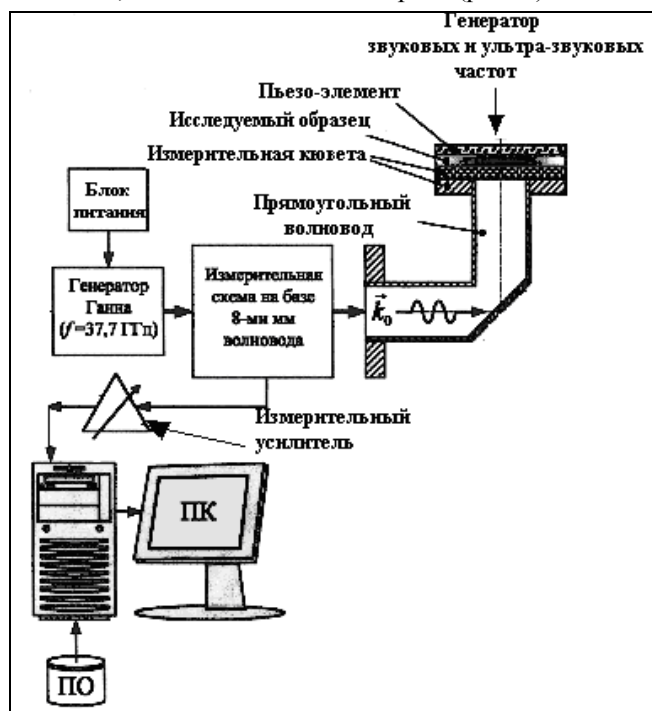


Рис. 1. Аппаратно-регистрирующий комплекс для измерения электромагнитного отклика биологических объектов в мм-диапазоне длин волн при помощи пьезо-элемента.

Управление пьезо-элементом осуществлялось ПК по специально разработанной программе, задающей режимы модуляции. В качестве основного режима являлся «sweep» акустических частот ($f = 1000 \div 4000$ Гц). Измерительный сигнал поступал с

детектора линии P1-39 на предварительный усилитель, с выхода которого через АЦП, подавался на ПК. В качестве детектора использовался диод 3A123 кристаллическо-планарной структуры с барьером Шоттки.

Математическая обработка полученного массива данных осуществлялась с помощью разработанного программного обеспечения накопления сигнала с применением метода быстрого Фурье преобразования. При этом, исходя из частотных возможностей аппаратного комплекса и программы обработки, это преобразование соответствовало примерно 42 статистически независимым опытам. Частота дискретизации составляла 96 кГц 16-ти разрядного двоичного кода. Объем массива - до 47 Мб, длительность регистрации - до 230 сек в зависимости от поставленной задачи.

Использовался метод квази-стоячей волны, при этом, вместо коротко-замыкающего поршня, на конце миллиметрового волновода размещалась измерительная кювета на пьезо-кристалле с обратным пьезо-эффектом. Амплитуда механических колебаний $\leq 0,01 \lambda_v$, где λ_v - длина электромагнитной волны в волноводе [13].

В рабочий объем кюветы дозатором помещалась исследуемая суспензия $V = 275$ мкл. В начале каждого эксперимента проводилась калибровка по дистиллированной воде. Максимальный временной интервал между регистрацией дистиллированной воды и суспензией микроводорослей не превышал 5 минут. В процессе записи контролировались параметры мм-части измерительно-регистрирующего комплекса (частота, мощность). Таким образом, на исследуемый объект (суспензия микроводорослей) осуществлялось синхронное воздействие двух видов физических полей - электромагнитного и акустического.

Электромагнитное поле ($f_{несущая} = 37$ ГГц), создаваемое внутри прямоугольного волновода сечением $5,2 \times 3,4$ мм и модулированное меандром, или набором частот до нескольких килоггерц по интенсивности, воздействует на молекулы воды, входящей в состав исследуемой суспензии. Нелинейность процессов взаимодействия позволяет выделять в спектре воздействия на макромолекулярные комплексы микроводорослей низкочастотную составляющую электромагнитного поля для детектирования возможного резонансного взаимодействия.

Акустическое воздействие на исследуемую суспензию, создаваемое в размещенной в полости волновода пьезо-кюветы с обратным пьезо-эффектом, позволяет, с одной стороны, упорядочить микроводоросли, имеющих соответствующую анизотропию, что усиливает высокочастотный электромагнитный сигнал соответствующей поляризации [17,18]; с другой стороны, в системе вода-мембрана-внутриклеточные структуры, выйти на длинноволновую часть акустического (звукового,

механического) резонанса, который, в свою очередь, должен проявиться в электромагнитном спектре.

В ходе эксперимента регистрировался электромагнитный сигнал с выхода детекторной секции, зонд которой был расположен на расстоянии 3-х длин волны в волноводе ($\lambda_{\text{волновод}}$) от измерительной кюветы. Так как измерительная кювета на пьезо-элементе помещена в 8-мм волновод и является неотъемлемой частью конструкции измерительного миллиметрового комплекса, то измеряемый сигнал U (в децибелах, дБ) пропорционален реальной части (ϵ') комплексной диэлектрической проницаемости (ϵ^*). Увеличение показателя U , дБ свидетельствует об увеличении параметра ϵ' и уменьшении гидратации клеточной системы [16] и, соответственно, снижению фотосинтеза.

Объектами исследования являлись образцы микроводорослей, взятые из открытых водоёмов, обеспечивающие питьевой водой население Харьковской области. В объеме образцов преобладали одноклеточные формы – представители отделов цианобактерий и зеленые водоросли. Забор воды проводился из прибрежных зон в летне-осенний период; образцы сохранялись в лабораторных условиях при температуре $t = 20 \pm 2$ °С при искусственном освещении 6,6 - 7,4 лк. Дополнительный контроль состояния микроводорослей осуществлялся с помощью микроскопа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 2 приведен результат обработки спектрального распределения воздействия акустических волн в «сweep-режиме» на кювету с водой (aqva) и суспензией микроводорослей (algae), из которого видно отличие в начале области акустического резонанса (1820 Гц ÷ 1920 Гц), при этом данные, полученные по образцам “aqva” и “algae” вискозиметром с рабочим ходом 300 мм и относительной точностью 0,5%, не отличались (измерения вискозиметром проводились на нулевой частоте).

Выше отмечено, что методом диэлектromетрии в области дисперсии диэлектрической проницаемости свободной воды была выявлена тесная связь фотосинтетической активности водорослей и уровнем гидратации клеточных структур [14,15]. Было показано, уровень фотосинтеза в культуре клеток *Chlamydomonas reinhardtii* Dang. и *Chlorella vulgaris* Beijer. тем выше, чем больше гидратированы мембранные и внутриклеточные структуры микроводорослей, т.е. чем больше количество связанных молекул воды с биологической системой. Поэтому, вводимое только для понимания этих результатов специалистами других областей, понятие “комфорт-дискомфорт” качественно отражает уровень фотосинтеза.

На рис. 3 представлена частотная зависимость комбинированного воздействия ЭМИ мм-диапазона и акустических волн на суспензию микроводорослей. Из рисунка видно, что в диапазоне частот модуляции миллиметрового излучения $f = 1000 \div 4000$ Гц выделились частоты, на которых усилился электромагнитный отклик от микроводорослей: при этом частота 1524 Гц характеризует суспензию микроводорослей увеличением количества свободной воды (состояние «дискомфорта»); на частотах 1981 Гц и 2287 Гц отчетливо прослеживается увеличение гидратации (состояние «комфорта»).

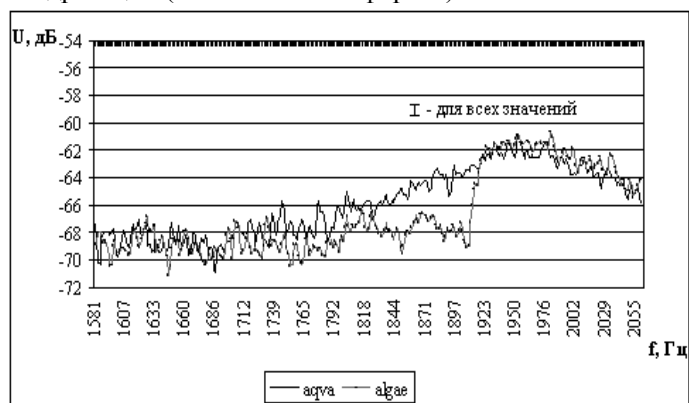


Рис. 2. Частотная зависимость акустического воздействия на суспензию микроводорослей (algae) и дистиллированную воду (aqva). По оси ординат – уровень электромагнитного сигнала на частоте 37 ГГц (без модуляции).

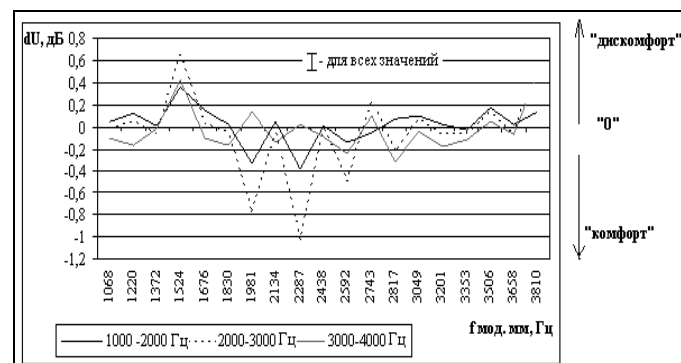


Рис. 3. Частотная зависимость комбинированного воздействия ЭМИ мм-диапазона и акустических волн на суспензию микроводорослей. По оси ординат: разность текущего уровня и контрольного безакустического воздействия. По оси абсцисс: частота модуляции ЭМИ мм-диапазона волн. Черная линия – участок «сweep-режима» акустических волн 1000 ÷ 2000 Гц, пунктир – 2000 ÷ 3000 Гц, серая линия – 3000 ÷ 4000 Гц.

Полученные результаты показывают низко-частотную часть спектра возникающих резонансов при взаимодействии акустического и модулированного низкой частотой электромагнитного сигнала миллиметрового диапазона. При этом можно обозначить поле частот модуляции $f = 1900 \div 2900$ Гц для электромагнитной части и $f = 2000 \div 3000$ Гц – для акустической части как комбинированное воздействие на суспензию микроводорослей. Надо

учитывать, что в механизмах взаимодействия в этой области частот участвует целая клеточная система, включая её водное окружение, в отличие от высоких частот модуляции (доли и единицы мегагерц), где находится область резонансного взаимодействия липидного бислоя мембраны.

Природные частоты биологических резонансов, как правило, лежат в пределах частот миллиметрового диапазона радиоволн, и наблюдаются на разных уровнях организации живого – атомно-молекулярном [19], клеточном [20] и организменном [21]. На сегодняшний день высказано много предположений об эффектах воздействия миллиметровых волн на клетку и многие сводятся к опосредованному влиянию через водное окружение, играющее жизненно необходимую роль в функционировании целостной биологической системы. Однако, легковозбудимые миллиметровые резонансы сильно демпфированы водным окружением биологической системы и, вклад миллиметрового излучения в резонансное взаимодействие биологической системы с электромагнитным полем незначителен [22]. Следуя высказанным предположениям, что мм-волны в мембране клетки возбуждают акустоэлектрические колебания, с помощью которых осуществляется управление внутриклеточными сигналами, необходим поиск частот электромагнитного и акустического комбинированного взаимодействия при низких частотах модуляции, которые могут возбуждать те же самые механизмы управления клеткой [23].

Полученные результаты также дают возможность, комбинируя и подбирая частоты ЭМИ мм-диапазона и акустических волн, создавать устройства управления процессами жизнедеятельности микроводорослей, например, в биореакторах при синтезе различных органических веществ.

В заключении хотелось бы отметить достаточно близкое совпадение с исследованиями по стафилококкам [2], у которых начальная граница резонансных частот составила 4 кГц, которые представляют собой резонанс целой клетки. Далее следующие по спектру частоты, доходящие до единиц мегагерц, связаны с резонансами внутриклеточных структур – это частоты близкие к 10 МГц, которые соответствуют частотам, возникающим при преобразовании электромагнитной энергии в акустоэлектрический резонанс липидного бислоя мембраны.

Таким образом, общее поле спектрального воздействия на клетки размера от 1 мкм до 7 мкм находится в пределах единиц килогерц и долей и единиц мегагерц для внутриклеточных структур, но эта область граничит с гиперзвуком и механизмы физического возбуждения этого воздействия представляют определенные технические трудности, связанные с вводом гиперзвука в рабочую область кюветы.

ВЫВОДЫ

1. Определена область акустических частот ($f = 1730 \div 1990$ Гц) для суспензии микроводорослей, в которой происходит увеличение гидратации клеток, фиксируемое с помощью метода диэлектromетрии в области дисперсии диэлектрической проницаемости свободной воды.

2. Комбинированное воздействие акустических волн и ЭМИ мм-диапазона с амплитудной модуляцией определяет область резонансных частот для суспензии микроводорослей: для ЭМИ мм-диапазона – это $f = 1900 \div 2900$ Гц, для акустических волн – $f = 2000 \div 3000$ Гц. Можно констатировать существенное перекрытие частотных диапазонов для акустических волн и модулированных практически тем же диапазоном частот ЭМИ мм-радиоволн.

Авторы выражают благодарность коллегам ИРЭ НАНУ в лице проф. С.А. Масалова, к.ф.-м.н. Ю.Е. Каменева, к.ф.-м.н. В.Г. Коржа и к.ф.-м.н. Г.И. Комаря. Особую благодарность авторы выражают редакции журнала за возможность опубликовать работы, находящиеся в поле деятельности различных областей физики живого и ещё неустоявшейся научной терминологии.

Литература

1. Кольцов Ю. В., Королёв В. Н. Комбинированное воздействие на биологические объекты инфракрасного и микроволнового излучения // Радиотехника и электроника.- 1999.- Т. 44, №6. – С. 743 - 745.
2. Greguss P. Interaction of optical radiation with living matter // Opt. Laser Technology.- 1985.- Vol. 17, № 3.- P. 151-158.
3. Gherardini L., Radel S., Devic-Kuhar B., Benes E. A new ultrasound-based cell immobilisation technique // Proc. Forum Acusticum 2002 Sevilla, Spain, Special Session PNA-01: Acoustics of Dispersed Particulate Matter.
4. Mazzocchi J.P., Fekete D.L., Baskaran H., Pintauro P.N. Development of multilayered cell-hydrogel composites using an acoustic focusing technique // Biotechnol Prog.- 2010. –Vol.26, № 2.- PP. 600-605.
5. Saitakis M., Dellaporta A., Gizeli E. Measurement of Two-Dimensional Binding Constants between Cell-Bound Major Histocompatibility Complex and Immobilized Antibodies with an Acoustic Biosensor // Biophysical Journal.- 2008.- Vol. 95.- PP. 4963–4971.
6. Griesbauer J., Wixforth A., Schneider M. F. Wave propagation in lipid monolayers // Biophysical Journal.- 2009.-Vol. 97.- PP. 2710-2716.
7. Петросян В. И., Сеницын Н. И., Ёлкин В. А. Люминесцентная трактовка «СПЕ-эффекта» // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника.- 2002.- №1.- С. 28-38.
8. Петросян В. И., Сеницын Н. И., Ёлкин В. А. Взаимодействие водосодержащих сред с электромагнитными полями // Биомедицинская радиоэлектроника.- 2000.- № 2.- С. 10-17.
9. Walther M., Plochocka P., Fischer B. Collective vibrational modes in biological molecules investigated by terahertz time-domain spectroscopy // Biopolymers. – 2002.- Vol. 67, № 4-5.- P. 310 – 313.

10. Yu B., Zeng F., Yang Y. Torsional Vibrational Modes of Tryptophan Studied by Terahertz Time-Domain Spectroscopy // Biophysical Journal.- 2004.- Vol. 86.- P. 1649 – 1654.
11. Pickwell-MacPherson E. Biomedical application of terahertz pulsed imaging and spectroscopy // International Conference on laser application in life sciences, 4-6 December 2008, Taiwan.- P. 40.
12. Knab J., Chen J.-Y., Markelz A. Hydration Dependence of Conformational Dielectric Relaxation of Lysozyme // Biophysical Journal.- 2006.-Vol. 90.- P. 2576 - 2581.
13. Древал Н. В. Применение миллиметровых и субмиллиметровых радиоволн и их комбинации в исследовании биологических объектов // дис...канд. биол. наук: 03.00.02 / Древал Наталия Владимировна.- Симферополь, 2009.- 163 с.
14. Parshikova T., Shchegoleva T., Kolesnikov V., Dreval N. The interrelation between photosynthetic activity of microalgae and state of water structuredness in cells / International conference on photosynthesis and crop production: conf. proc, Kiev, Ukraine, 2002.- P. 88.
15. Parshikova T., Sirenko L., Shchegoleva T., Kolesnikov V. Express control of growth and physiological state of microalgae // International Journal on Algae.- 2002.- Vol. 4, №1.- P.106 - 117.
16. Колесников В.Г., Древал Н.В., Каменев Ю.Е., Комарь Г.И., Корж В.Г. Метод оценки электромагнитного отклика биологической системы при воздействии лазерного излучения // Физика живого.- 2008.- Том 16, №2.- С. 70- 77.
17. Gherardini L., Radel S., Devcic-Kuhar B., Benes E. A new ultrasound-based cell immobilisation technique // Proc. Forum Acusticum 2002 Sevilla, Spain, Special Session PHA-01: Acoustics of Dispersed Particulate Matter.
18. Mazzoccoli J.P., Feki D.L., Baskaran H., Pintauro P.N. Development of multilayered cell-hydrogel composites using an acoustic focusing technique // Biotechnol Prog.- 2010. -V.26, № 2.- PP. 600-605.
19. Коварский В. А. Квантовые процессы в биологических молекулах. Ферментативный катализ // Усп. Физ. Наук.- 1999.-Т. 169, №8.- С. 889 - 908.
20. Rabbitt R., Ayliffe H., Christensen D. Evidence of Piezoelectric Resonance in Isolated Outer Hair Cells // Biophysical Journal.- 2005.- Vol. 88.- P. 2257 – 2265.
21. Stone D., Robinson M. Total body water measurements using resonant cavity perturbation techniques // Physics in medicine and biology.- 2004.- Vol. 49.- P.1773 - 1788.
22. Adair R. Vibrational Resonances in Biological Systems at Microwave Frequencies // Biophysical Journal.- 2002.- Vol. 82.- P. 1147 –1152.
23. Девятков Н. Д., Голант М. Б., Бецкий О. В. Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности.- М.: Радио и связь.- 1991.- 168 с.

ЗАСТОСУВАННЯ КОМБІНОВАНОГО ВПЛИВУ ЕЛЕКТРОМАГНІТНИХ І АКУСТИЧНИХ ХВИЛЬ НА МІКРОВОДОРСТІ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ РЕЗОНАНСНИХ ЧАСТОТ

Колесніков В.Г., Древал Н.В.

Проведено дослідження комбінованого впливу електромагнітного випромінювання міліметрового діапазону (ЕМВ мм-діапазону) ($f = 37,5$ ГГц, $P = 10$ мВт/см²) та акустичних хвиль ($f = 1000 \div 4000$ Гц, $P_{\text{середнє}} < 7$ мВт/см²) на суспензію мікрowodоростей відкритих водоймищ Харківської області з метою визначення резонансних частот.

Ключові слова: резонанс, мікрowodорості, ЕМВ мм-діапазону, п'єзо-елемент, акустичний вплив, гідратація.

APPLICATION OF THE COMBINED INFLUENCE OF ELECTROMAGNETIC AND ACOUSTIC WAVES ON MICROALGAE FOR DETECTION OF RESONANT FREQUENCIES

Kolesnikov V.G., Dreval N.V.

The investigation of combined influence of electromagnetic irradiation of both millimeter frequency range (EMI mm-range) ($f = 37,5$ GHz, $P = 10$ mW/cm²) and acoustic waves ($f = 1000 \div 4000$ Hz, $P < 7$ mW/cm²) on microalgae samples of open reservoirs of Kharkov region with aim of assessing of resonance frequencies was carried out.

Key words: resonance, microalgae, EMI mm-range, piezo-element, acoustic action, hydration.