

Государственное бюджетное образовательное учреждение Школа 439 «Инженерный лицей
«Интеллект»

Проектно - исследовательская работа

на тему

“Влияние звуков различных частот на биологические свойства патогенных бактерий.”

Автор работы: Киселев Дмитрий шк.439 11Б

Научные Руководители:

педагог дополнительного образования, Денисенко И.И.,

педагог дополнительного образования, канд.биол.наук Денисенко Т.Е.

Москва 2017 г.

Содержание:

№п/п	Название раздела	Страница
1	Введение	3
2	Литературный обзор	4
3	Материалы и методы	5
4	Результаты	8
5	Выводы	10
6	Список литературы	11
7	Приложения	12

Введение

При изучении исторических и литературных источников выяснилось, что во время крупных эпидемий инфекционных болезней на Руси «стоял» колокольный звон. В те времена в колокола звонили как при радостных событиях (праздники), так и для оповещения населения о беде (война и др.). Но именно при эпидемиях колокольный звон был наиболее интенсивный и длительный по времени. Неужели таким образом люди пытались прекратить распространение болезни? Но каким образом звуки колоколов могли повлиять на здоровье человека или на возбудителей заболевания? В современной медицине используется метод стерилизации жидкостей, а так же лечение некоторых инфекционных заболеваний с помощью ультразвука определенных частот. Звуковые колебания, вызываемые колоколами, охватывают не только слышимый нами диапазон, но и выходят за его пределы. Колебания с частотой более 25 кГц, называемые ультразвуком, мы не можем услышать, однако именно они способны уничтожить болезнетворные микроорганизмы.

Нами была выдвинута **гипотеза**: звуки определенных частот влияют на биологические свойства патогенных бактерий.

Цель работы: изучить влияние звуковых волн определенных частот на живые культуры кишечной палочки.

Задачи:

1. Изучить литературные источники, исторические справки об эпидемиологической ситуации в России XV-IXX вв.
2. Сгенерировать ряд звуковых колебаний, имитирующих звуковые частоты колоколов Русской Православной Церкви и других звуков.
3. Изучить биологические свойства музейного штамма *E.Coli*.
4. Произвести воздействие звуковыми частотами на культуры микроорганизмов и определить наличие изменений биологических свойств обработанных культур.

Литературный обзор.

При изучении источников литературы выяснилось, что информация о вопросах действия слышимых частот звуков на микроорганизмов зачастую публикуется только в «Желтой прессе». Однако в достоверных исторических источниках упоминаются использование колокольного звона при лечении и профилактике инфекционных заболеваний. Итак мы узнали что в древности верили, что болезни вызываются бесами, поэтому часто звонили в церковные колокола во времена эпидемий. В XVI и XVII веках с появлением чумы колокола звонили либо медленно и размеренно, либо часто и с перезвонами. Это делалось по предписанию тогдашних врачей — не из соображений, связанных с религией или суеверием, а потому, что полагали, что громкий звук разгоняет тяжелый, зараженный воздух, считавшийся одной из причин болезни [1].

По данным физика Фотия Шатунова, колокола излучают огромное количество резонансных звуковых волн и тем самым очищают пространство. Шатунов доказал: полноактивный колокольный звон убивает бактерии в радиусе 70 км и гармонизирует пространство. Уникальная спиралевидная траектория звука, получающаяся при ударе в колокол, оказывается губительной для многих болезнетворных микробов [1; 2].

За счет специфического распределения мощности звуковой волны структуры микробных клеток приходят в резонанс и разрушаются. Гибнут даже такие микроорганизмы, как вирус гепатита, споры сибирской язвы.

Древние мастера владели секретами изготовления и отливки колоколов с различными типами излучений энергии. Предполагают, что им удавалось отливать колокола со звоном, обладающим избирательным воздействием на болезнетворную флору, о которой тогда, естественно, лишь только догадывались. Так Александр Герцен писал о старом трескучем колоколе, который был водружен на пьедестал почета в одном из швейцарских городов за то, что он

своим звоном спас жителей этого города и его окрестностей от гибели во время эпидемии чумы [1;2]!

Ряд исследователей считает, что под воздействием колокольного звона оболочка микроорганизмов разрушается. Происходит это на частоте выше 25 кГц.

Звуковые колебания, вызываемые колоколами, охватывают не только слышимый нами диапазон, но и выходят за его пределы. Колебания с частотой более 25 кГц, называемые ультразвуком, мы не можем услышать, однако именно они способны уничтожить болезнетворные микроорганизмы.

Сегодня с помощью ультразвука консервируют продукты, стерилизуют медицинские инструменты и космические аппараты. Применение терапевтических свойств ультразвукового спектра повышает иммунитет и сокращает время выздоровления при инфекционных заболеваниях. Установлено, что после воздействия колокольного звона активность патогенных микроорганизмов снижается на 40%. Звуки колокола, несущие резонансное ультразвуковое излучение, в течении нескольких секунд способны убить болезнетворные бактерии и вирусы. Ультразвуковые колебания колоколов разрушают их оболочку, после чего бактерия или вирусная частица становятся неопасными для человеческого здоровья[1;2].

Материалы и методы



фото 1

Наша работа состояла из трех этапов. **Вначале** мы провели исследования литературных данных и провели оценку материалов, публикующих данную проблему.

На втором этапе мы проводили работу в студии звукозаписи и

лаборатории «Физика звука» ГБОУ Школа 439 «Инженерный лицей «Интеллект» (см. **фото1**). Мы изучили физико-акустические характеристики различных звуков, включая белый и розовый шум. Нами были выбраны, прослушаны и проанализированы фонограммы звучания колоколов разных православных храмов России. Для исследования были отобраны 10 звуковых фрагментов, которым условно были присвоены номера: белый шум(2), розовый шум(1), $\sin 20 \text{ Hz}$ (5), $\sin 20 \text{ kHz}$ (6) и 6 фонограмм колокольного звона из разных православных храмов: Колокол (3), Колокол (4), Колокол (7), Колокол (8), Колокол (9), Колокол (10).

На **фотографии 1** представлено профессиональное программное обеспечение Logic Pro X, с помощью которого осуществлялась генерация и воспроизведение необходимых звуковых волн, а также был использован программный анализатор для определения звуковых частотно-динамических характеристик.

Акустические системы, представленные на **фотографии 2 приложения** обладают способностью воспроизведения звука в частотном диапазоне от 20 до 20000 Гц, с минимальным отклонением от линейной характеристики.

На **фотографии 3 приложения** представлены цифро-аналоговые преобразователи, позволяющие декодировать цифровой поток данных в аналоговый вид сигнала.

Третий этап исследования - микробиологический мы осуществляли на кафедре микробиологии Московской Государственной Академии Ветеринарной Медицины и Биотехнологии - МВА имени К.И.Скрябина. Для изучения нами был выбран музейный штамм кишечной палочки - *Escherichia coli*. Данный вид бактерий был выбран не случайно, а потому, что кишечная палочка относится к семейству энтеробактерии и имеет сходные биологические свойства с возбудителем чумы человека - *Yersinia pestis* [3; 5]. Кроме того кишечная палочка в микробиологии является наиболее изученной бактерией и с ней довольно просто работать и проводить исследования. С целью изучения

биологических свойств данного микроорганизма мы провели исследование морфологии, культуральных, биохимических свойств, а так же факторов патогенности - гемолитические свойства и вирулентность для белых мышей [3;4]. При изучении морфологии мы окрашивали мазки по Граму и микроскопировали в иммерсионной системе при увеличении в 1000 раз (**фото 4**).



Фото 4



Фото 5

Для исследования культуральных свойств мы осуществляли посев культуры на среду Эндо и культивировали посеvy при температуре 37⁰С в аэробных условиях в течение 18 часов (**фото 5**). Учитывали обильность роста и морфологию колоний, а так же способность микроорганизма сбраживать лактозу.

При изучении гемолитических свойств проводили посеvy на мясо-пептонный кровяной агар. Учитывали наличие зон гемолиза вокруг колоний микроорганизма.

Для определения вирулентности кишечной палочки проводили экспериментальное заражение белых линейных мышей чистой культурой кишечной палочки в концентрации 500млн микробных тел в мл. подкожно в дозе 0,5 мл. За животными наблюдали 10 дней. Отмечали наличие симптомов инфекционного заболевания и гибель мышей. Работу по заражению животных проводил преподаватель кафедры (**фото 6 и 7 приложения**).

После изучения базовых биологических свойств культуры кишечной палочки мы выполнили посев этих микроорганизмов на 11 чашек Петри со средой Эндо газонным методом. Каждую чашку обрабатывали в течение 10 минут одним из видов звуковых волн. (**фото 8 приложения**). Звуковые волны подавались с одинаковой амплитудой. Одна чашка была контрольной и не подверглась обработке.

Все чашки после опыта поместили в термостат на 24 часа при температуре 37⁰С. Для оценки подсчитывали количество выросших колоний начиная с контрольной чашки, сравнивая с ней все последующие результаты. Далее из всех образцов готовили суспензию на физиологическом растворе и производили экспериментальное заражение белых мышей.

Результаты

При изучении звуковых фонограмм нами были получены графические изображения разных звуковых волн (**фото 9-18 приложения**). На фото показаны данные спектр-анализатора, которые указывают, что все использованные виды колоколов имеют различные характеристики по несущей частоте и амплитуде, а так же содержат в себе ряд специфических гармоник четного и нечетного порядка, имеют различие по ширине диапазонов и наличию обертонов и гармоник.

Так образец №1 характеризуется тем, что его несущая частота, т.е. основной тон колокола 110 Гц, а ряд гармоник: 100Гц, 140Гц, 420Гц, 500Гц. При этом у второго образца (№2) мы отметили частоту 500Гц, ряд гармоник: 125-Гц, 250Гц, 1000Гц, 2000Гц. Звук колокола №3 характеризуется несущей частотой 1500Гц (более высокий тон) и рядом гармоник: 500гц, 1000Гц, 2000-Гц, 4000Гц имеет полностью гармонический ряд, хорошо воспринимаемый человеческим слухом как приятное созвучие. Образец №4 имеет частоту 600-Гц, а гармоники: 125Гц, 250Гц, 1000Гц, 1500Гц. Колокол №5 имеет несущую частоту как у образца №3, однако его гармонический ряд отличается: 16Гц, 500Гц, 2000Гц, 4000Гц и воспринимается человеком как тревожный звук.

Образец №6 имеет основной тон 750Гц, а ряд гармоник: 140Гц, 500 Гц, 1000-Гц, 2000Гц.

При микробиологическом исследовании оказалось, что биологические свойства исследуемой культуры кишечной палочки соответствовали данному виду бактерий [3; 5] . По морфологии - подвижные грамтрицательные палочки, не образующие споры и капсулы (**см. фото 19 приложения**). На среде Эндо образует колонии малинового цвета с металлическим блеском, среднего размера с тенденцией к сливному росту. Лактозоположительная. Вирулентная для белых мышей при экспериментальном заражении, гибель животных отмечается на 6-е сутки после заражения.

В **таблице 2 приложения** показаны результаты исследования влияния различных звуковых волн на рост и размножение культуры кишечной палочки. Как видно из таблицы количество КОЕ (колоние образующих единиц) в разных пробах изменялось незначительно, за исключением №№ 4, 9 и 10. В данных посевах наблюдалось снижение численности микроорганизмов, однако их культуральные свойства не изменялись. В пробах 4 и 9 выросшие колонии кишечной палочки были крупные и полностью соответствовали таковым в контрольной пробе. Однако в 10 чашке мы наблюдали угнетение роста и размеров колоний микроорганизмов. Помимо воздействия звуков этот факт может быть связан с погрешностями при посеве и требует дополнительных исследований. В целом при изучении действия данных звуковых источников на чистую культуру *E.coli* мы не отмечали достоверных изменений количества колоние образующих единиц (КОЕ) после воздействия звуком на свежие посеvy этого микроорганизма.

При исследовании вирулентности базовой культуры кишечной палочки гибель белых мышей отмечалась на 6-е сутки после заражения. При изучении патогенности культур после обработки звуками мы наблюдали за зараженными животными 72 часа и на данный момент времени (26 дней) не обнаружили

у них симптомов инфекционного заболевания, 100% мышей остаются живыми.

Выводы

1. При изучении литературных источников и исторических данных по теме нашей работы мы обнаружили, что существуют сообщения, указывающие на возможность действия звуков различных частот на патогенные микроорганизмы.

2. Характеристики спектр-анализатора показали, что все использованные виды колоколов имеют различные характеристики в частотном спектре и содержат в себе ряд специфических гармоник четного и нечетного порядка.

3. Образцы звуков колоколов были взяты из различных церквей, следовательно основные отличия заключаются в размерах колоколов, сплавов, из которых изготовлены колокола. Основные отличия звуков заключаются в несущей частоте, четных и нечетных гармониках, тональностях звука.

4. При сравнении графических изображений звуков колоколов с белым шумом, розовым шумом и синусоидным типом звуковой волны, мы отметили достоверное отличие частотных и акустических характеристик.

5. Биологические свойства изучаемой нами культуры кишечной палочки соответствовали данному виду бактерий, согласно определителю бактерий Берджи.

6. После воздействия выбранными нами звуковыми волнами на посевы чистых культур исследуемых микроорганизмов мы не отметили достоверно значимых изменений количества живых клеток или изменения культуральных свойств.

7. Незначительное снижение КОЕ в пробах 4 и 9, а так же более слабый рост в пробе 10 возможно указывает на воздействие данных звуковых коле-

баний на микроорганизмы, но эти данные требуют дальнейших исследований.

8. Изучение влияния звуков на живые организмы может помочь в разработке методов лечения и профилактики инфекционных заболеваний человека и животных.

Список литературы

1. Тайна колокольного звона <http://magplus.ru/esche/260-9>
2. Церковные колокола против чумы <http://povary.ru/article.php?id=386>
3. Справочник: «Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных» Д.И.Скородумов, В.В.СУбботин, М.А.Сидоров, Т.С.Костенко - М.: «Изограф», 2005 - 653с.
4. Каврук Л.С., Бритова С.В., Кононенко А.Б. и др. Методические указания по микробиологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями, М.: - 1999г
5. Руководство: «Определитель бактерий Берджи» Девятое издание. 2 тома. Под редакцией Дж. Хоулта, Н.Крига, П.Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса - М.: Мир, 1997г. - 799с.

ПРИЛОЖЕНИЯ



Фото 2. Акустические системы, способные к воспроизведению звука в частотном диапазоне от 20 до 20000 Гц, с минимальным отклонением от линейной характеристики.



Фото 6. Виварий



Фото 7. Работа с животными



Фото 3. Цифро-аналоговые преобразователи



Фото 8 Обработка культуры E.coli звуковыми сигналами с различными характеристиками.

Таблица 1. Характеристики применяемых фонограмм



Фото 9. Розовый шум



Фото 10. Белый шум



Фото 11. sin 20 Hz

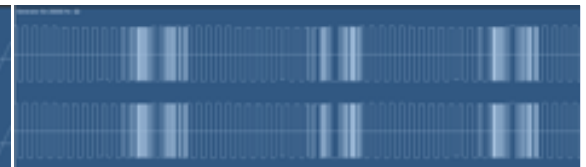
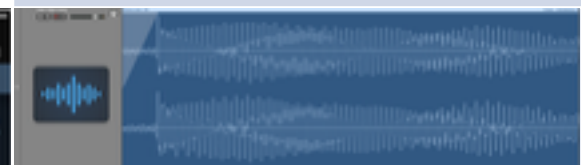


Фото 12. sin 20 kHz



Фото 13. Характеристики колокола №1



5.



Фото 14. Характеристики колокола 2

6.

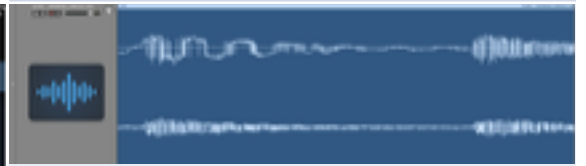


Фото 15. Характеристики колокола 3

7.



Фото 16. Характеристики колокола 4

8.



Фото 17. Характеристики колокола 5

9.



Фото 18. Характеристики колокола 6

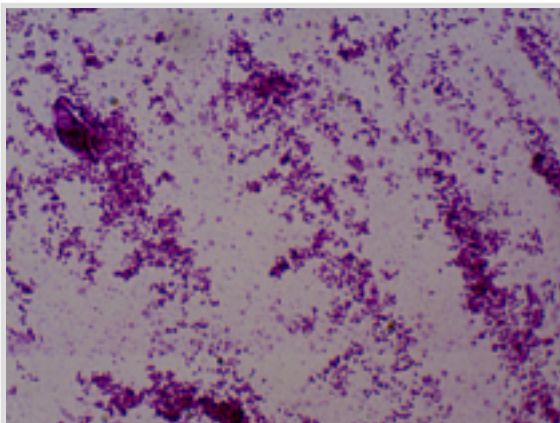
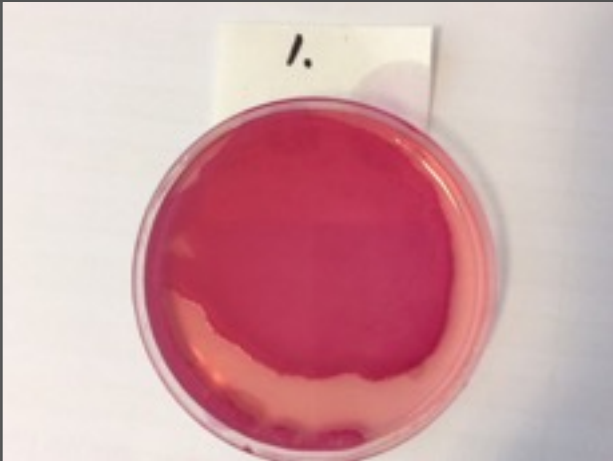

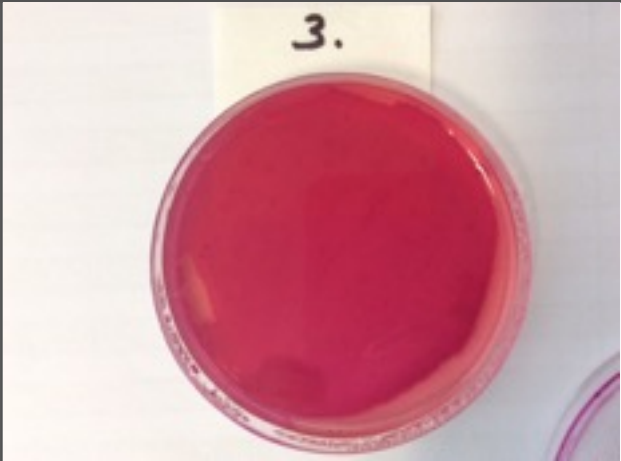




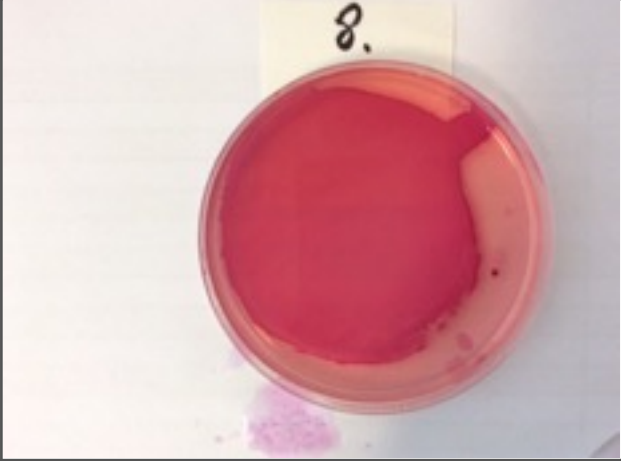
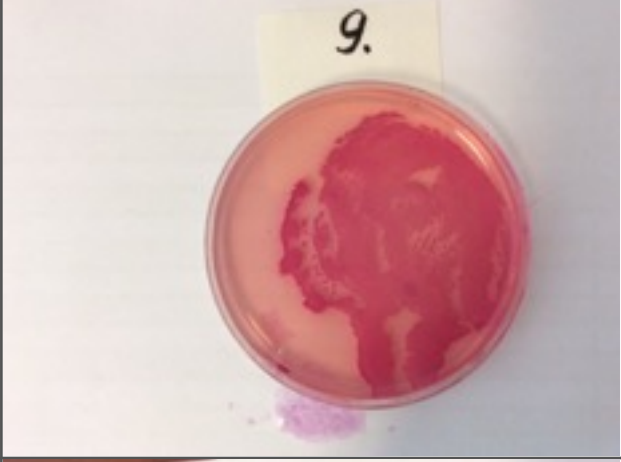



Фото 19. Морфология E.coli. Грамотрицательные палочки.

Таблица 2. Количество КОЕ кишечной палочки при росте на среде Эндо в контрольной и опытных чашках.

№ пробы	Количество КОЕ	Фото
1. контроль	90 000	
2	100 000	
3	100 000	

№ пробы	Количество КОЕ	Фото
4	50 000	 <p>A petri dish containing a red agar medium. A small yellow label with the number '4.' is placed above the dish. The agar surface shows some faint, irregular red spots.</p>
5	70 000	 <p>A petri dish containing a red agar medium. A small yellow label with the number '5.' is placed above the dish. The agar surface shows a more uniform red color with some faint spots.</p>
6	90 000	 <p>A petri dish containing a red agar medium. A small yellow label with the number '6.' is placed above the dish. The agar surface shows a uniform red color with some faint spots.</p>
7	90 000	 <p>A petri dish containing a red agar medium. A small yellow label with the number '7.' is placed above the dish. The agar surface shows a uniform red color with some faint spots.</p>

№ пробы	Количество КОЕ	Фото
8	85 000	
9	50 000	
10	65 000	
11	100 000	