

УДК 551.321.1:66.065.5:537.63:544.032.
53:543.456:(639.31+664.8.037+577.3)

Экспериментальная оценка значимости влияния переменного низкочастотного магнитного поля на образование кристаллов льда применительно к биологическим субстанциям

Аграрный научный центр «Донской»
(«АНЦ «Донской»), г. Зерноград,
Российская Федерация

КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Максименко Владимир Андреевич

E-mail: elektro_skniimesh.rashn@mail.ru

ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:

данные текущего исследования
доступны по запросу
у корреспондирующего автора.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Максименко, В.А. (2023). Экспериментальная оценка значимости влияния переменного низкочастотного магнитного поля на образование кристаллов льда применительно к биологическим субстанциям. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (4), 61–74. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.479>

ПОСТУПИЛА: 04.03.2023

ПРИНЯТА: 15.12.2023

ОПУБЛИКОВАНА: 30.12.2023

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

автор сообщает об отсутствии
конфликта интересов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ:

Исследование выполнено в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 годы), утвержденной распоряжением Правительства РФ №3684-р от 31.12.2020 г. по шифру госзадания: 0505-2022-0007 «Разработать интегрированный подход и новые принципы, процессы и технические средства в системе переработки зерновых культур».

В. А. Максименко

АННОТАЦИЯ

Введение: При замораживании биологических образцов, особенно животных, часто наблюдаются потери их жизнеспособности и функциональных характеристик. Основной причиной повреждений клеток является формирование ледяных кристаллов, растущих в направлении острых углов при замерзании воды. Предполагается, что воздействие на дипольный момент молекул воды может ослабить межмолекулярные связи, способствуя уменьшению размеров структур, которые служат ядрами будущих кристаллов льда, и увеличивая их количество в замороженной воде, что влияет на размеры острых углов кристаллов. В качестве метода воздействия рассматривается использование переменного магнитного поля, эффективность которого в данном контексте ещё не была полностью изучена.

Цель: путем воздействия на воду до и во время замораживания выявить наличие влияния низкочастотного магнитного поля на величину и конфигурацию образовавшихся кристаллов и кристаллических соединений льда.

Материалы и методы: В рамках исследования была использована дистиллированная вода, исключая присутствие внешних примесей для обеспечения чистоты эксперимента. Основным методом оценки эффекта магнитного поля на процесс кристаллизации воды стало сравнение микрофотографий образцов льда, полученных в проходящем поляризованном свете. Отбор критериев для анализа изображений основывался на характеристиках, связанных с размерами кристаллов. На основании этих признаков опытные образцы классифицировались как подвергшиеся воздействию, слабо реагирующие или не реагирующие на воздействие. Микроснимки льда делались при помощи микроскопа с видеокамерой и простейшим поляризатором непосредственно в морозильной камере при температуре $-7,2^{\circ}\text{C}$. Использовалось переменное магнитное поле с периодическими импульсами длительностью 1 секунда и паузой 50 секунд, индукцией 50 мТл и частотой тока 600 Гц. Устройство для удержания воды и замораживания льда представляло собой проволочную рамку диаметром 3 мм. В ходе экспериментов условия замораживания для контрольного и опытного образцов (за исключением магнитного воздействия) были одинаковыми.

Результаты: в проделанных опытах (38 микроснимков) положительность физического воздействия переменного магнитного поля проявилась в 70% опытов, слабо проявилась в 20% и не проявилась в 10%. На основании этого методика выявления влияния можно считать приемлемой для использования, а воздействие переменного магнитного поля способствующим уменьшению кристаллов и заострений на них.

Заключение: полученный результат позволяет считать необходимым продолжение дальнейших исследований физических воздействий на кристаллизацию воды с приближением к практическому использованию замораживания в технологиях селекционных работ и при хранении пищевого сырья и продуктов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

замораживание; биологические объекты; вода; структурированность; лёд; воздействие; магнитное поле; микроснимки



Experimental Evaluation of the Significance of the Influence of Variable Low-Frequency Magnetic Field on Ice Crystal Formation in Relation to Biological Substances

Agrarian Scientific Center "Donskoy"
("ANC "Donskoy"), Zernograd, Russian
Federation

CORRESPONDENCE:

Vladimir A. Maksimenko

E-mail: elektro_skniimesh.rashn@mail.ru

DATA AVAILABILITY:

Data from the current study are available upon request from the corresponding author.

FOR CITATIONS:

Maksimenko, V.A. (2023). Experimental evaluation of the significance of the influence of variable low-frequency magnetic field on ice crystal formation in relation to biological substances. *Storage and Processing of Farm Products*, (4), 61–74. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.479>

RECEIVED: 04.03.2023

ACCEPTED: 15.12.2023

PUBLISHED: 30.12.2023

DECLARATION OF COMPETING

INTEREST: none declared.

FUNDING:

The research was conducted within the framework of the Program for Fundamental Scientific Research in the Russian Federation for the long-term period (2021–2030), approved by the decree of the Government of the Russian Federation No. 3684-r dated December 31, 2020, under the state assignment code: 0505-2022-0007 "To develop an integrated approach and new principles, processes, and technical means in the system of grain crops processing."



Vladimir A. Maksimenko

ABSTRACT

Introduction: During the freezing of biological samples, especially animals, there are often losses in their viability and functional characteristics. The main cause of cell damage is the formation of ice crystals growing in the direction of sharp angles when water freezes. It is assumed that influencing the dipole moment of water molecules can weaken intermolecular bonds, helping to reduce the sizes of structures that serve as nuclei for future ice crystals, and increasing their number in frozen water, which affects the sizes of sharp angles of crystals. As a method of influence, the use of an alternating magnetic field is considered, the effectiveness of which in this context has not yet been fully studied.

Purpose: To determine the influence of low-frequency magnetic fields on the size and configuration of formed crystals and crystalline compounds of ice by affecting water before and during freezing.

Materials and Methods: Distilled water was used as a material, excluding the presence of external impurities to ensure the purity of the experiment. The main method of assessing the effect of a magnetic field on the process of water crystallization was a comparison of microphotographs of ice samples obtained in transmitted polarized light. The selection of criteria for image analysis was based on characteristics related to the sizes of crystals. Based on these features, experimental samples were classified as affected, weakly responsive, or non-responsive to influence. Micrographs of ice were taken using a microscope with a video camera and a simple polarizer directly in the freezer at a temperature of -7.2°C . A variable magnetic field with periodic pulses of 1 second duration and a pause of 50 seconds, an induction of 50 mT, and a current frequency of 600 Hz was used. The device for holding water and freezing ice consisted of a wire frame with a diameter of 3 mm. During the experiments, freezing conditions for control and experimental samples (except for magnetic influence) were identical.

Results: In the conducted experiments (38 microphotographs), the positivity of the physical effect of the variable magnetic field was manifested in 70% of experiments, weakly manifested in 20%, and not manifested in 10%. Based on this, the method for detecting influence can be considered acceptable for use, and the effect of a variable magnetic field contributes to reducing crystals and sharpness on them.

Conclusion: The obtained result suggests the necessity of continuing further research on physical effects on water crystallization, approaching practical application in freezing technologies in selective works and storage of food raw materials and products.

KEYWORDS

freezing; biological objects; water; structuring; ice; influence; magnetic field; microphotographs

ВВЕДЕНИЕ

В основе биохимических процессов подавляющего числа живых существ нашей планеты лежит использование воды. Человечество как часть этого числа, но обладающая повышенным интеллектом для своего выживания пришло к технологиям создания запасов и методам их хранения. Одним из лучших его способов является охлаждение, которое широко применимо и достаточно глубоко исследовано не только для пищевых запасов, но и биологических объектов используемых в научных технологиях (Головкин и др. 1987; Далецкая & Полякова, 1994; Красильникова, 2021; Сторожева, 2006; Чебанов и др. 2004; Шац, 2019).

Биологические объекты, подлежащие сохранению при низких температурах можно подразделить по содержанию влаги в них на несколько групп. Первые в этом ряду растительные объекты — зрелые семена (в технологии генетических банков хранения семян), просушенные до критической влажности хранения (3–7%), содержание воды в которых настолько мало, что она не соединяется в объёмы, в которых возможна структуризация, её укрупнение и образование льда (Далецкая, & Полякова, 1994; Шац, 2019; Chetverikova, 2008). Последние — это, преимущественно, объекты животного происхождения с большим (70% и более) содержанием в них влаги. Для этих объектов, как правило, весьма проблематично обеспечить сохранность качества при хранении и также эта проблема остается и для низкотемпературного, криогенного хранения (Дибирасулаев, Белозеров, Дибирасулаев, & Орловский, 2016). Особенно остро она обозначилась в ихтиологии и аквакультуре (Андреев, Садикова, Ивлиева, & Борода, 2017).

Разведение ценных пород рыбы в естественных природных условиях с использованием естественного способа размножения с экономических позиций весьма низкопродуктивно. Основным фактором этой непродуктивности является гибель от внешних воздействий оплодотворенной и неоплодотворенной икры, а так же рыбной молоди на ранних стадиях развития от хищников и инфекций (Чебанов, Галич, & Чмырь, 2004). Использование способов искусственного оплодотворения икры и последующего начального выращивания молоди в оборудованных специальных водоемах значительно повышают продуктивность маточного поголовья.

Разработанные и применяемые технологии искусственного размножения рыбы предполагают использование свежих (до 2–3 часов после извлечения) икры и молок. Такое требование затрудняет совмещение во времени добычу этих компонентов и производства оплодотворения (Пономарева и др., 2022; Чебанов и др., 2004). При проведении селекционных работ по улучшению имеющихся пород рыб и выведению новых такое совмещение во времени приобретает особую остроту и становится возможным только в том случае если один из компонентов (молоки) заранее заготовлен и находится в состоянии хранения с возможностью запланированного, достаточно быстрого перевода в биологически активное состояние (Белая и др., 2018; Красильникова, 2019). Одним из лучших и наиболее широко используемых способов хранения таких биологических объектов является глубокая заморозка (в жидком азоте, иногда переохлажденном) (Красильникова, 2019; Пономарева, Неваленный, Белая, & Красильникова, 2017; Firsova, Ponomareva, Krasilnikova, & Belaya, 2021). Однако, как считают использующие этот метод селекционеры-рыбоводы, процент биоматериала сохраняющего свои репродуктивные качества при этом недостаточен (Красильникова, 2021; Коляда и др. 2022; Пономарева и др. 2017; Чебанов и др. 2004).

Исследования, посвященные использованию низких температур для хранения биологических объектов обширны и по охвату и во времени. В них выявлены основные причины и механизмы гибели живых организмов в целом и их отдельных клеток в процессе охлаждения и глубокого замораживания (Дибирасулаев и др., 2017; Жмакин, 2008). В основном это механические повреждения, которые обусловлены:

- (1) образованием кристаллов воды и ростом их острых концов, которые при последующих тепловых подвижках повреждают клеточные мембраны;
- (2) образованием групп кристаллов, прикрепленных к стенкам живой клетке, которые при дальнейшем охлаждении деформируют прилегающую клетку;
- (3) укрупнением кристаллов и групп кристаллов при оттаивании и при достаточно продолжительном нахождении воды в эвтектическом состоянии.

В отличие от других веществ, образующих кристаллы, вода уже в жидком состоянии содержит их зачатки, часто называемые кластерами, имеющие весьма разные величины по числу объединённых молекул (от $n = 200$ до $n = 10\,000\,000$), способных поддерживать ядро кристаллизации (Жмакин, 2008). Направленность водородных связей молекул формирует кластер как многогранник (гексаэдр), который при температуре кристаллизации становится окончательно устойчивым вследствие перепада тепловой активности молекул воды в закритическую область.

Склонность воды к кристаллизации и рекристаллизации обуславливается еще и наличием в ней ионов других веществ с зарядом того или иного знака. При этом, с помощью электрического поля можно управлять размером зерен в поликристалле (Жмакин, 2008). Наличие криопротекторов (веществ меняющих характер замораживания) в воде провоцирует образование двупирамидальных кристаллов особенно при переохлаждении воды более $-2,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Жмакин, 2008). Один из механизмов повреждения живых клеток — это проникновение кристаллов через отверстия в мембране, возникшие в результате электростатического пробоя. Отверстие при росте кристалла в нём расширяется и мембрана после оттаивания становится не способной выполнять свои функции (Ponomareva et al., 2020). Рост внеклеточного льда приводит к изменению трансмембранного потенциала и переориентации мембранных белков, обладающих дипольным моментом, что меняет проницаемость мембран. Таким образом, повреждение клеток при замораживании биологических объектов — это результат образования и роста кристаллов воды, входящей в состав клетки и окружающих её.

Многочисленными исследованиями, проведенными в разных странах, выявлено более двенадцати форм твердого состояния воды¹ (Жмакин, 2008; Зацепина, 1974; Пиментел & Мак-Клеллан, 1964; Шавлов, 2005; Шибков и др., 2001). Повышение давлений и скоростей охлаждения замерзающей

воды уменьшает размер формирующихся кристаллов и изменяет их взаиморасположение, что, собственно, и превращает первую, основную форму льда в другие двенадцать форм вплоть до аморфного, то есть в котором молекулы не укладываются в упорядоченную структуру, а устанавливаются в хаотическом состоянии. Кристаллы льда могут иметь разную величину, а также могут объединяться в группы образовывать поликристаллы. Их величина может достигать нескольких миллиметров и даже сантиметров, что легко наблюдаемо (Красильникова, 2021).

Кроме поликристаллов образуются еще и группы кристаллов, которые имеют форму близкую к гексагональной, двойной пирамидальной, а на плоских поверхностях прямоугольной. Отмечено, что и сами кристаллы и поликристаллы и группы кристаллов увеличивают свои размеры при уменьшении скоростей охлаждения^{1,2,3} (Дибирасулаев, Белозеров, & Архипов, 2017; Жмакин, 2008). Физическое, самое простое и довольно поверхностное объяснение этого явления состоит в следующем. Структурированность воды, средняя величина ее кластеров — это своего рода баланс между электростатическими силами диполей молекул воды и межмолекулярными силами взаимного притяжения. Первые под воздействием температуры можно считать неизменными. Вторые с её повышением ослабляются. Следовательно, прогрев воды уменьшает ее структурированность, а охлаждение увеличивает.

Процессы перестроения кластеров, их увеличения и уменьшения в воде идут постоянно, но с той или иной скоростью, зависящей от энергетического состояния воды, которое может быть следствием внешних физических воздействий (Жмакин, 2008). Отбор энергии, например теплоотвод, останавливает уменьшение кластеров, а уменьшение уровня подвижности молекул до критического переводит неустойчивые кластеры в устойчивые кристаллы. Такое замедление молекул воды сопровождается тепловыделением и поэтому часть кластеров

¹ Кристаллизация льда. (2008–2022). Сайт Производство пищевых продуктов. О воде. Производство и применение льда. Строение льда. <http://www.comodity.ru/proizvodstvolda/stroenielda/1.html> (дата обращения 03.04.2022)

² Мосин, О.В., & Игнатов, И. (2006–2021). Тайны ледяных кристаллов. https://www.o8ode.ru/article/krie/Secrets_of_the_ice_crystals (дата обращения 21.09.2021)

³ Мосин, О.В. (2006–2021). Диэлектрические свойства воды и льда. http://www.o8ode.ru/article/krie/Dielectric_properties_of_water_and_ice (дата обращения: 23.01.2022).

принявших это тепло продолжают находиться в докристаллическом состоянии и они способны благодаря своим электростатическим дипольным моментам присоединяться к близлежащим кластерам и кристаллам. Такое состояние вещества называют эвтектикой. Его продолжительность зависит от направления и скорости приёма и отдачи энергии молекулами воды. По логике вещей процесс построения кластеров характеризуется временем. Практикой отмечено, что при медленном замораживании визуально наблюдаемые кристаллы заметно крупнее (Шавлов, 2005). Последнее позволяет полагать, что уменьшая время роста кристаллов можно уменьшать их величину и за счет предварительного уменьшения кластеров, и за счет уменьшения времени на их последующий рост.

Многомолекулярные структуры воды, имеют некоторую преимущественную конфигурацию, которая может наращивать и уменьшать свой размер. Меньшей устойчивостью обладают большие структуры. Ослабление межмолекулярных связей, физическое воздействие на дипольный момент молекул будет способствовать уменьшению размера структур, тем самым уменьшая зародыши будущих кристаллов льда и увеличивая их количество в объеме воды после её замерзания⁴ (Балаболин и др. 2019; Жмакин, 2008; Шавлов, 2005; Шибков и др. 2001; Ponomareva et al., 2023). Увеличение или уменьшение размеров этих зародышей обусловлено активностью молекул воды и их предварительной ориентацией относительно друг друга. Активность молекул является следствием усвоения тепла водой, а замораживание, снижение активности молекул воды до критического значения, наоборот является следствием отдачи водой тепла. Предварительное перед замораживанием дезориентирование молекул относительно друг друга и даже кластеров может быть проделано внешним энергетическим воздействием в направлении их пространственной хаотизации и уменьшения.

Для их обратного укрупнения потребуется какое-то время. Это время обусловлено скоростью отвода тепла и степенью дезориентации молекул воды. Поэтому любое внешнее воздействие, направленное

на увеличение теплоотвода и на уменьшение размеров структур воды, перед и во время замораживания будет способствовать в последствии уменьшению кристаллов льда в том числе и при переходе воды из жидкого состояния в твердое через эвтектическое состояние. Электромагнитная сущность молекулярных диполей воды из известных и доступных методов воздействия на нее, способствующих разрушению кластеров и остановке роста заостренных кристаллов, позволяет считать возможным использование для этого переменные магнитные и электрические поля⁵, ультразвук, инфракрасный, электромагнитный и конвективный подогрев при соблюдении теплового баланса обеспечивающего минимально возможное время замораживания (Балаболин и др., 2019; Ponomareva et al., 2023).

По совокупности качеств, к которым относятся техническая простота, технологическая универсальность, наилучшее соотношение между энергиями уменьшения кластеров воды и нагрева обрабатываемого объекта её содержащего можно отдать предпочтение низкочастотному переменному магнитному полю опробованному в поисковых исследованиях для пищевых технологий (Барышев и др., 2019).

Цель данного исследования: путем воздействия на воду до и во время замораживания выявить наличие влияния низкочастотного магнитного поля на величину и конфигурацию образовавшихся кристаллов и кристаллических соединений льда.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Введение

Поскольку основная цель исследований направлена на снижение повреждаемости биологических объектов при хранении в низкотемпературном режиме и выходе из него, а оценка её достижения потребует достаточно больших затрат, то в этих условиях рациональным представляется в качестве предварительного объекта исследования использовать непосредственно воду, не содержащую для чистоты опыта посторонних включений. Поисковыми

⁴ Брагинец, С.В. (2022). Отчет о НИР. №223020700801–1. *Разработать технологический регламент организации внутрихозяйственной системы переработки зерна и обеззараживания зерна и семян: 0505–2022–0007*. Волгоград: СКНИИМЭСХ ФГБНУ «АНЦ «Донской».

⁵ Кудряков, И.В. (2022). Патент №2778148 РФ. *Способ бескристаллического замораживания водосодержащих продуктов питания*. Москва: ООО «Новые пищевые технологии».

исследованиями предполагается оценить влияние электрофизических воздействий именно на величину и форму кристаллов льда при их образовании в присутствии переменного магнитного поля.

Критерии оценки

Важно обозначить критерий оценки воздействия на воду, с целью уменьшения размеров кристаллов и их заострений при её переходе из жидкого состояния в твёрдое. Критерий по возможности должен обладать следующими, зачастую противоречивыми, свойствами: иметь возможность цифрового выражения, быть приемлемым по затратам труда и средств для его определения, не требовать высокого уровня навыков и квалификации от персонала, допускать возможность сравнения для разных объектов оценки, иметь достаточную повторяемость при неизменности объекта оценки. На этапе поисковых исследований, проводимых методом визуального сравнительного анализа микроснимков льда, полученных при наличии (в опыте) и отсутствии (в контроле) воздействия на замораживаемую воду, использовали критерий вытекающий из признаков проявляющихся на изображениях сопутствующих преобладанию либо мелких (безопасных кристаллов), либо крупных кристаллов, которые как раз и сопровождаются образованием заострений. По совокупности признаков воздействие (переменным магнитным полем) в опыте считали проявившимся, слабо проявившимся или не проявившимся. Конечная оценка представлена процентным отношением.

Факторы, влияющие на величину кристаллов при переходе воды в твердое состояние

Исходя из известных представлений о физическом механизме перехода воды из жидкой фазы в твердую и с учетом особенностей и условий проводимых экспериментов по выявлению влияния физических воздействий на замораживание, можно выделить следующие факторы, вызывающие изменение величины и формы кристаллов получаемого льда:

- (1) Скорость отвода тепла от охлаждаемой воды. Прямое либо косвенное определение этого параметра затруднительно. Представляется рациональным поддерживать этот фактор в опыте одинаковым для контрольного и для

опытного образцов посредством неизменности скорости воздуха в зоне охлаждения, одинаковости удерживающих устройств (места расположения замораживаемой воды), одинаковости температур для обоих образцов и одинакового количества замораживаемой воды.

- (2) Содержание в воде включений в виде твёрдых частиц и ионов химических веществ, способствующих или наоборот препятствующих зарождению и росту кристаллов (Коляда и др., 2022; Шавлов, 2005; Andreevet al., 2009a; Andreev et al., 2008; Rusco et al., 2019). Для этого так же рациональным представляется использовать одинаковую (дистиллированную) воду для контроля и образцов (Шавлов и др., 2007).
- (3) Уровень внешнего энергетического воздействия, то есть исследуемого фактора. Для чистоты эксперимента в контрольном образце он должен отсутствовать, а в опытном — соответствовать задаваемым значениям.

Кроме явных, возможно влияние и неявных случайных, факторов. К ним можно отнести: влажность воздуха, время установки образца в микроскоп, идентичность его настроек и другие, трудно учитываемые факторы. Минимизацию их влияния необходимо обеспечивать одинаковостью и чёткостью выполнения действий при проведении опыта, увеличением числа повторностей.

Оборудование, инструменты, методы и процедура исследования

Главным условием экспериментального замораживания является одинаковость условий отвода тепла от контрольного и опытного образцов. Вторым условием должно быть поддержание достаточных отрицательных температур микроскопа и видеокамеры до окончания съемки. Эти условия обеспечивали настройками морозильного устройства. Опытным путём температуру его выбирали из следующих соображений — низкая отрицательная температура способствует уменьшению величины кристаллов, что мешает наблюдению магнитного воздействия, а повышенная отрицательная температура увеличивает время входа камеры и микроскопа в режим достаточных отрицательных температур, не допуская таяние льда в оцениваемых образцах

во время съёмки. Опытным путём была выбрана температура замораживания $-7,2^{\circ}\text{C}$ с пределами: пуск начала охлаждения холодильной камеры при $-6,8^{\circ}\text{C}$ и останов — при $-7,3^{\circ}\text{C}$, обусловленными допустимой повторностью включения двигателя компрессора морозильного устройства. Это обеспечивало эксплуатационный температурный допуск видеокамеры и достаточное охлаждение микроскопа по истечению двух часов.

В качестве морозильного устройства использовали камеру Haier HCE 103R типа «ларь», дополненную твердотельным выключателем и регулятором-измерителем температуры ТРМ-10. Внутри камеры был установлен лопастной прямооточный вентилятор (от блока питания (БП)). Для размещения устройств удержания воды и получения образцов льда использовали изготовленные из бумаги трубки, которые располагали вне зоны потока от вентилятора в нижней части камеры⁶.

Магнитное поле создавал соленоид с внутренним диаметром 30 мм, длиной обмотки 45 мм, наружным диаметром до 50 мм, намотанный проводом толщиной 1 мм. В качестве источника тока по нему использовали генератор ГЗ-109 и усилитель SONY-STR-DK5 (Максименко & Буханцов, 2022).

Воздействие переменного магнитного поля имело: периодический импульсный характер с продолжительностью импульса 1 с и паузы 50 с, индукцию 50 мТл, при частоте тока 600 Гц⁷. (Пахомов и др., 2021).

Для измерения магнитной индукции использовали микросхемный преобразователь (датчик Холла) SS49E и вольтметр В7–27/А1. Ток измеряли амперметром М381 с диодным мостом.

Устройства удержания воды и замораживаемого льда представляли собой: проволочную круглую

рамку (Шибков и др., 2001), прикрепленную к основанию из фольгированного стеклотекстолита, имеющему вырез, позволяющий заполнять рамку водой путем её окунания (Рисунок 1)^{6,8}.

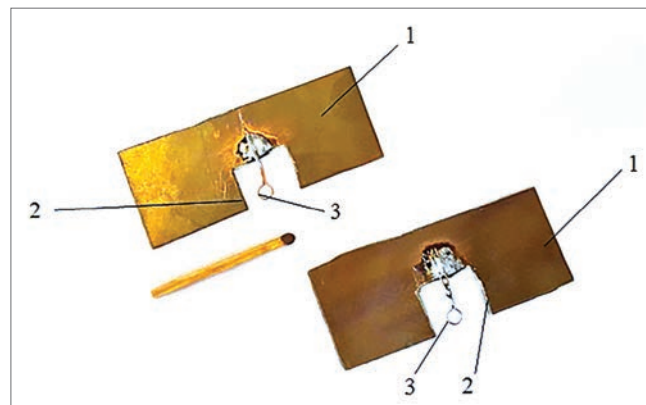
Диаметр рамки (3 мм) выбран экспериментально, из условия достаточности поля обзора объективом микроскопа и некоторой минимальности толщины плёнки и в то же время обеспечения устойчивости пленки на период полной кристаллизации. Поскольку в опытах использован метод сравнения двух образцов льда на двух рамках, то, естественно, эти рамки и их пространственное ориентирование относительно предметного столика микроскопа должны быть максимально идентичны.

Одинаковость водяной плёнки, минимальность её толщины и устойчивость при замораживании в зависимости от приемов ее окунания в воду также определяли опытным путем.

В исследованиях применили опробованный (Шибков и др., 2001) метод получения изображения ле-

Рисунок 1

Рамки в форме колец для образцов льда, получаемого из водяной пленки



Примечание. 1 — пластина из фольгированного стеклотекстолита; 2 — паз; 3 — рамка в форме кольца из медной проволоки.

⁶ Брагинцев С.В., рук. (2022). Отчет о НИР. №223020700801–1. *Разработать технологический регламент организации внутрихозяйственной системы переработки зерна и обеззараживания зерна и семян: 0505–2022–0007*. Зеленоград: СКНИИМЭСХ ФГБНУ «АНЦ «Донской». <https://elibrary.ru/item.asp?id=49938213>

⁷ Брагинцев С.В., рук. (2021). Отчет о НИР. №222020800014–5. *Разработать новые технологические принципы, процессы и технические средства в системе переработки и обеззараживания зерна и семян: 0706–2019–0006*. Зеленоград: СКНИИМЭСХ ФГБНУ «АНЦ «Донской». <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47847330>

⁸ Шибков А.А., Желтов М.А., & Королев А.А. *Собственное электромагнитное излучение растущего льда* (Опубликовано: 02.06.2008, последняя редакция: 06.03.2012) [Электронный ресурс]. Сайт o8ode.ru/ Кристаллы воды. Лёд. Снег. — Электрон. дан.: runet, cop. 2006–2021. <https://www.o8ode.ru/article/krie/electro.htm>

данных кристаллообразований в проходящем поляризованном свете с его регистрацией цифровой камерой. В работе использованы были веб-камера UCMOS05100KPA, совместимая с персональным компьютером, оснащенная программой TourCam и принятая к оснащению микроскопов МИКМЕД-6, устройство простой поляризации проходящего света к микроскопу МИКМЕД-6 (АО «ЛОМО», г. Санкт-Петербург) и собственно сам микроскоп^{9,10}.

Известный характер прохождения поляризованного света через оптически активные кристаллы, к которым относятся и кристаллы льда, позволили сформулировать признаки, определяющие пониженную и повышенную крупности кристаллов и кристаллоидов образцов льда, получаемых в ходе выявления наличия или отсутствия внешнего физического воздействия на кристаллизацию. В задачу электрофизического воздействия входит уменьшение заострений на перифериях кристаллов, которые напрямую связаны с их величиной (чем больше кристалл, тем больше в нем острых выступов).

При визуальной оценке микроснимков льда на крупность его кристаллов были обоснованы характерные признаки.

Краткое обоснование признаков

Поскольку основной механизм повреждения живых клеток животного происхождения при их замораживании вызван ростом кристаллоидов обусловленным объединением первичных кристаллов с образованием заострений то всякий признак выявленный на микроснимке оцениваемого образца льда свидетельствующий в пользу или против укрупненности кристаллоидов может быть использован для оценки влияния внешнего физического воздействия на воду при её переходе в лёд, на крупность его кристаллоидов.

Рассмотрение микроснимков образцов льда показывает, что на подавляющем большинстве их просматриваются пузырьковые образования. При-

чем в образце они располагаются неравномерно, а преимущественно смещены к его центру — центру используемой кольцевой рамки, изготовленной из меди. Правомерно предположить, что поскольку пузырьки хорошо просматриваются это может обеспечиваться только наличием у них поверхности раздела сред. Замораживаемая вода дистиллированная, поэтому образование пузырьков жидкости с высокой солевой концентрацией исключено. Следовательно, остается считать природу пузырьков газовой. Их граничные поверхности на снимках просматриваются как более темные и даже черные. Что соответствует повышенному количеству оптически неактивных кристаллов на поверхностях раздела, образующих пузырьки. Смещение пузырьков к центру рамки объяснимо вектором теплоотдачи в сторону весьма теплопроводной медной рамки, от которой начинается и идет кристаллизация, образование и смещение пузырьков. Достаточно быстрая кристаллизация препятствует их укрупнению, смещению к центру, выходу в атмосферу. Эти признаки свидетельствуют в пользу образования мелких кристаллоидов и, следовательно, меньшей повреждаемости замораживаемых клеток (Kobelev et al., 2021).

На представленных микроснимках образцов льда, не подвергавшихся физическому воздействию и в меньшей мере подвергавшихся наблюдаются участки разного цвета: зеленого, желтого, розового, коричневого, черного. Все эти цвета имеют примесь белого.

Цветовая неоднородность проявляется через наличие достаточно больших участков одинаковой, отличающейся от других, цветности, что характеризует однонаправленность и одинаковость угла отклонения оптических осей кристаллов и, следовательно, одно направленность их роста при замораживании, которая сопровождает образование заострений способных повреждать живую клетку. Величину участков можно связывать с величиной кристаллоидов, которые в свою очередь привязаны к наличию заострений.

⁹ Брагинцев С.В., рук. (2022). Отчет о НИР. №223020700801–1. Разработать технологический регламент организации внутрихозяйственной системы переработки зерна и обеззараживания зерна и семян: 0505–2022–0007. Зерноград: СКНИИМЭСХ ФГБНУ «АНЦ «Донской».

¹⁰ Шибков, А.А., Желтов, М.А., & Королев, А.А. (2006–2021). Собственное электромагнитное излучение растущего льда. <https://www.o8ode.ru/article/krie/electro.htm>

Так или иначе, участки разной цветности имеют между собой границы. Несмотря на тщательную фокусировку объектива и явное отсутствие конденсата на оптике, на образцах льда наблюдаются и чёткие и размытые границы участков. Объяснить эту оптическую реальность можно тем, что кристаллы на размытой границе имеют разную пере-межающуюся ориентировку оптических осей и са-мих кристаллов и кристаллоидов, в состав которых они входят. Такая ориентировка не способствует росту кристаллов в одном направлении, то есть образованию у них заострений, и выражается в пере-межающемся преломлении поляризованного све-та, что ведет к смещению цветов на границе между участками. Такое перемежение может возникать при недостатке времени на построение крупных кристаллоидов вследствие внешнего физического воздействия и потому размытость границ является признаком этого положительного воздействия уменьшающего их заострения.

На некоторых микроснимках наблюдаются участки черного (темного серого) цвета, что может объяс-няться отсутствием преломления белого поляри-зованного света прошедшего через две преломля-ющие поверхности, верхнюю и нижнюю, образца льда. Отсутствие преломления возможно при пол-ной перпендикулярности всех лучей поверхности раздела сред, что не характерно для льда с его кри-сталлическими неровностями. Наиболее прием-лемым является объяснение этого явления одно направленностью оптических осей кристаллов входящих в состав черного участка. То есть черные участки, или по меньшей мере их поверхности, мо-гут состояться из однонаправленных кристал-лов что приводит их к склонности образования заострений из-за непроявившегося внешнего воз-действия.

Микроснимки поверхностей льда встречающиеся в литературе (Андреев и др., 2017; Зырянов и др., 2012) показывают, что формы укрупненных кри-сталлоидов могут иметь характерный вид¹¹. Их обозначенность на снимках свидетельствует об их крупности, которая сопровождается растущими за-острениями отрицательно влияющими на замора-живаемые биологические объекты.

Отмечаемый на микроснимках различный **уровень белизны** также может быть использован как при-знак положительного воздействия на величину кристаллов при замораживании. Высокий уровень белизны является следствием высокой хаотич-ности ориентации оптических осей кристаллов и невозможности построения кристаллоидов с за-острениями. То есть повышенную белизну можно считать признаком положительности внешнего физического воздействия на замораживание воды.

Таблица 1

Признаки положительного воздействия переменного магнит-ного поля или его отсутствия на микроснимках тонкого слоя льда в проходящем поляризованном свете

Признак	Вид на микроснимке	
	при непроявле-нии воздействия	при проявлении воздействия
Наличие, характер и количество пу-зырьковых образо-ваний	Увеличенный размер и боль-шое количество пузырьков	Уменьшенный размер и малое количество пузырьков
Цветовая неоднородность микро-снимка	Наличие много-цветности и боль-шие площади разных цветов	Выраженное преобладание одного-двух цветов
Размер и количе-ство участков оди-наковой цветности	Большие при большом количестве	Большие при малом количестве
Наличие и занима-емая часть микро-снимка участками повышенной белизны	Отсутствуют или мало	Присутствуют и много
Характер границ между участками разной цветности	Четкие	Размытые
Наличие участков с оптической неак-тивностью	Наличие и значи-мая часть	Отсутствие и малозначимая часть
Наличие участков с характерной фор-мой кристаллоидов	Есть в наличии	Отсутствуют

¹¹ Шибков, А.А., Желтов, М.А., & Королев, А.А. *Собственное электромагнитное излучение растущего льда*. <https://www.o8ode.ru/article/krie/electro.htm>

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Одновременным замораживанием контрольного и опытного образцов было получено и проанализировано 19 пар цветных снимков поверхности льда в проходящем поляризованном свете. Характерные из них представлены на Рисунках 2, 3, 4.

Снимок на Рисунке 2а (*контроль 9*): размер пузырьковых образований средний, цветовая неоднородность высокая, границы цветовых участков выраженные, размеры цветовых участков большие и средние, имеется большой черный оптически не активный участок в середине образца (около 35%), формы цветовых участков характерны для

кристаллоидов льда, участок повышенной белизны не значительный.

Снимок на Рисунке 2б (*опыт 9*): размер пузырьковых образований средний при этом их форма в значительной части близка к мелкокристаллоидной, цветовая однородность высокая, границы цветовых участков выражены нечетко, размер участка повышенной белизны значительный (до 30% площади), оптически не активный участок весьма мал.

Вывод: по совокупности признаков воздействие на опытный образец при его замораживании является положительным, уменьшает размер кристаллоидов льда и увеличивает хаотичность их ориентации.

Рисунок 2

Снимки льда контрольного (а) и опытного (б) образцов при проявившемся воздействии

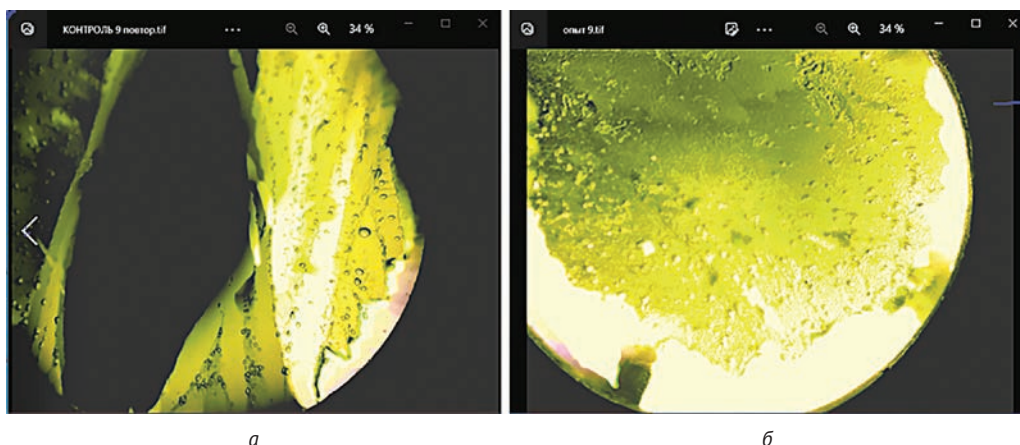


Рисунок 3

Снимки льда контрольного (а) и опытного (б) образцов при не проявившемся воздействии

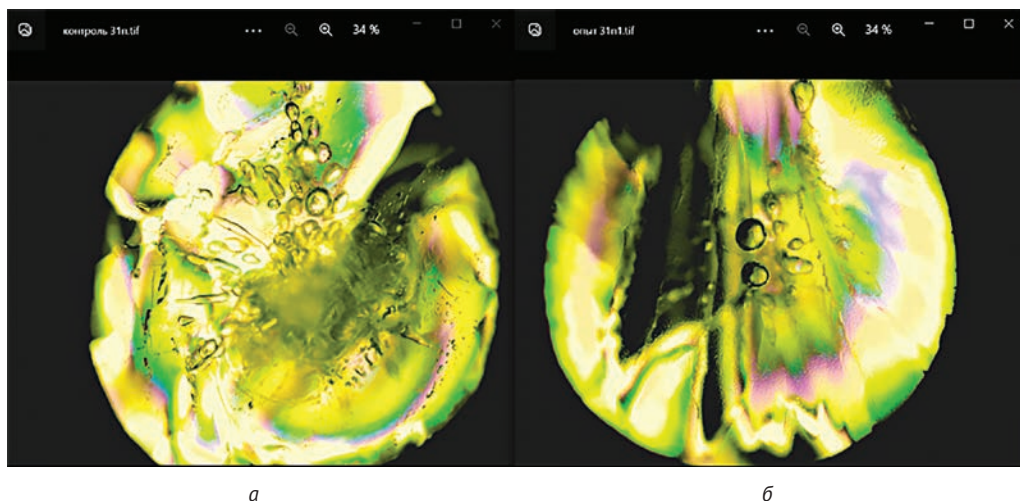
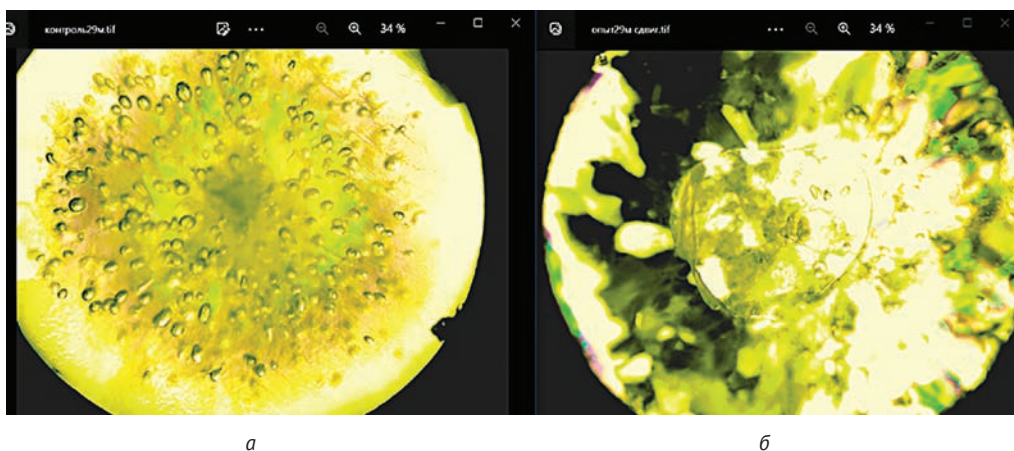


Рисунок 4

Снимки льда контрольного (а) и опытного (б) образцов при слабо проявившемся воздействии



Снимок на Рисунке 3а (*контроль 31н*): пузырьковые образования крупные многочисленные, цветовая неоднородность большая, участки имеющие близкую цветность преимущественно большие, участки повышенной белизны перемежаются с другими и занимают около 50 %, границы между участками разной цветности достаточно четкие, участки с оптической неактивностью невелики и не выражены, участки с формами кристаллоидов отсутствуют.

Снимок на Рисунке 3б (*опыт 31н*): пузырьковые образования крупные малочисленные, цветовая неоднородность большая, участки имеющие близкую цветность преимущественно большие, участки повышенной белизны перемежаются с другими занимают около 40 %, границы между участками разной цветности четкие, оптически неактивный участок достаточно велик (около 15 %), участки с формами кристаллоидов просматриваются в средней части образца.

Вывод: воздействие не проявилось.

Снимок на Рисунке 4а (*контроль 29м*): пузырьковые образования в большом количестве, крупные по размеру, имеют невыраженную радиальную ориентировку, цветовая неоднородность небольшая, границы цветных участков размытые и практически отсутствуют, участок повышенной белизны занимает периферию образца и площадь более 25 %, участки с формой кристаллоидов не просматриваются.

Снимок на Рисунке 4б (*опыт 29м*): цветовая неоднородность высокая, но представлена преиму-

щественно оптически неактивными (черными) участками и участками повышенной белизны, пузырьковые образования практически отсутствуют, границы цветных участков средней четкости, участки повышенной белизны разбросаны, но имеют большую (около 40 %) общую площадь, участки с формой кристаллоидов слабо выражены и малочисленны.

Вывод: по совокупности признаков опытный образец в какой то мере воспринял воздействие, имеет невыраженную малую кристаллоидность и на значительных площадях повышенную хаотичность пространственной ориентировки кристаллов, что позволяет считать воздействие слабо проявившимся.

В проделанных опытах (38 снимков) положительность физического воздействия переменным магнитным полем на процесс кристаллизации дистиллированной воды проявилась в 70 % опытов, слабо проявилась в 20 % опытов и не проявилась в 10 % опытов.

Таким образом, цель представленного исследования состоящая в подтверждении существенности влияния переменного магнитного поля на уменьшение кристаллов льда можно считать достигнутой. Используемые при этом его параметры с высокой вероятностью далеки от наилучших. Поэтому процент повторяемости положительного физического воздействия на величину кристаллов льда дальнейшими исследованиями может быть повышен. Полученные результаты дополняют общую картину образования кристаллов льда в замораживаемых биологических объектах (Андреев и др.

2017; Барышев, и др., 2019; Жмакин, 2008; Пономарева, Неваленный, Белая, & Красильникова, 2017) представлениями и доказательствами значимости влияния переменного низкочастотного магнитного поля на характер кристаллизации. Это влияние пока что мало исследовано и носит частный прикладной характер (Барышев и др., 2019) и поэтому представленная работа дополняет и расширяет знания о процессе. Изложенное не противоречит известным исследованиям о других видах физических воздействий на кластеры воды при её замораживании: криопротекторному (Андреев и др., 2017), акустическому (Балаболин и др., 2019), ультразвуковому (Ponomareva, Firsova, Kovalenko, Polovinkina, Kuzov, Alexandrova, & Pakhomov, 2023). Анализ упомянутых исследований и собственные результаты опытов автора наводят на мысль о возможности эффективного использования для уменьшения кристаллов льда и предотвращения образования у них острых кромок сочетания нескольких физических воздействий. Так, например, автором было опробовано замораживание стандартного водного раствора яичного желтка в магнитном поле и был наблюдаем весьма положительный результат на процесс кристаллообразования.

В отличие от используемых ранее исследовательских методик с быстрым замораживанием воды в среде обеспечиваемой жидким азотом (Андреев и др., 2017) применённый способ медленного замораживания позволил существенно выделить влияние фактора магнитного воздействия на уменьшение кристаллов льда, что дало возможность выявить его существенность, уменьшить затраты на поисковый эксперимент включая приборы, оборудование и их освоение. Такой методический прием вполне приемлем для оценки и других физических воздействий на образование кристаллов льда.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCE

- Андреев, А.А., Садикова Д.Г., Ивлиева, Н.А., & Борода, А.В. (2017). Формирование микрочастиц льда в криозащитных растворах. Биофизика, 62(2), 213–220. Andreev, A.A., Sadikova, D.G., Ivlicheva, N.A., & Boroda, A.V. (2017). Formation of ice microparticles in cryoprotective solutions. Biophysics, 62(2), 213–220. (In Russ.)
- Балаболин, Д. Н., Иванов В.С., & Сидоренко Ю.И. (2019). Перспективы использования акустической заморозки для криобиоза рыбы с возможностью её реанимации после холодильного хранения. В *Церевитиновские чтения — 2019: Материалы VI Международной научно-*

ВЫВОДЫ

В проделанных опытах (38 снимков) положительность физического воздействия переменным магнитным полем частотой 600 Гц, индукцией 50 мТл, продолжительностью импульса 1 с и паузы 50 с на процесс кристаллизации дистиллированной воды при $-7,2^{\circ}\text{C}$ проявилась в 70 % опытов, слабо проявилась в 20 % опытов и не проявилась в 10 % опытов. На основании этого использованную методику визуальной оценки влияния физических воздействий на воду перед и при её замораживании на изменение структуры льда можно считать приемлемой для использования в исследованиях по оценке зависимостей размеров заострений на кристаллах и самих кристаллов, а воздействие переменного магнитного поля на замораживаемую воду можно рассматривать как достаточно эффективное средство, способствующее их уменьшению. Полученный результат позволяет считать необходимым продолжение дальнейших исследований физических воздействий, в частности магнитных, на кристаллизацию воды с приближением к практическому использованию: для замораживания в технологиях селекционных работ и искусственного воспроизводства поголовья в рыборазведении и животноводстве, при хранении пищевого сырья и продуктов. Целесообразны также дальнейшие исследования по определению наилучших параметров магнитного воздействия: магнитной индукции в импульсе, частоты колебаний в нём (в импульсе), продолжительности импульсов, продолжительности пауз между ними, а также опробование различных сочетаний физических воздействий с подбором их параметров. Параллельно с этими весьма необходимо установление границ биологической и экономической эффективности, применяемых магнитных и других физических и химических воздействий.

практической конференции. Москва: РЭУ им. Г.В. Плеханова.

- Balabolin, D.N., Ivanov, V.S., & Sidorenko, Yu.I. (2019). Prospects for using acoustic freezing for fish cryobiosis with the possibility of its reanimation after refrigerated storage. In *Tseravitin Readings — 2019: Proceedings of the VI International Scientific and Practical Conference.* Moscow: Plekhanov Russian University of Economics. (In Russ.)
- Барышев, М.Г., Лисицын, А.Б., Половодов, Ю.А., & Половодова, А.Ю. (2019). Влияние низкочастотного магнитного поля на процесс образования

- монокристаллов льда в охлаждённых мышечных тканях. *Все о мясе*, 3, 32–35.
- Baryshev, M.G., Lisitsyn, A.B., Polovodov, Yu.A., & Polovodova, A.Yu. (2019). The influence of low-frequency magnetic field on the process of forming ice monocrystals in chilled muscle tissues. *All About Meat*, 3, 32–35. (In Russ.)
- Белая, М.М., Красильникова, А.А., & Пономарева, Е.Н. (2018). Разработки Южного научного центра РАН в области криоконсервации репродуктивных клеток рыб. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*, 20(5–2), 280–286.
- Belaya, M.M., Krasilnikova, A.A., & Ponomareva, E.N. (2018). Developments of the Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences in the field of cryopreservation of fish reproductive cells. *News of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 20(5–2), 280–286. (In Russ.)
- Головкин, Н.А., Маслова, Г.В., & Скоморовская, И.Р. (1987). *Консервирование продуктов животного происхождения при субкриоскопических температурах*. Москва: Агропромиздат.
- Golovkin, N.A., Maslova, G.V., & Skomorovskaya, I.R. (1987). *Conservation of animal products at subcryoscopic temperatures*. Moscow: Agropromizdat. (In Russ.)
- Далецкая, Т.В., & Полякова, Е.Н. (1994). Влияние криоконсервации на прорастание семян и некоторые стадии метаболизма. В *Биофизика живой клетки. Криоконсервация генетических ресурсов в проблеме сохранения биоразнообразия: Сборник статей*. М.-Пушкино: Институт биофизики клетки РАН.
- Daletskaya, T.V., & Polyakova, E.N. (1994). The effect of cryopreservation on seed germination and some stages of metabolism. In *Biophysics of the Living Cell. Cryopreservation of genetic resources in the problem of biodiversity conservation: Collection of articles*. Moscow-Pushchino: Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences. (In Russ.)
- Дибирасулаев, М.А., Белозеров, Г.А., Архипов, Л.О. (2017). Разработка спектрофотометрического метода ускоренной идентификации замороженных блоков, выработанных из парного или охлажденного мяса, для обоснования выбора технологических режимов их размораживания. *Все о мясе*, 5, 48–52.
- Dibrasulaev, M.A., Belozеров, G.A., Arkhipov, L.O. (2017). Development of a spectrophotometric method for accelerated identification of frozen blocks made from paired or chilled meat to justify the choice of their defrosting technological regimes. *All About Meat*, 5, 48–52. (In Russ.)
- Дибирасулаев, М.А., Белозеров, Г.А., Дибирасулаев, Д.М., Орловский, Д.Е. (2016). Влияние субкриоскопической температуры хранения на количество вымороженной воды в NOR и DFD говядине. Теория и практика переработки мяса, 1(2), 18–25.
- Dibrasulaev, M.A., Belozеров, G.A., Dibrasulaev, D.M., Orlovsky, D.E. (2016). The influence of subcryoscopic storage temperature on the amount of frozen out water in NOR and DFD beef. Theory and Practice of Meat Processing, 1(2), 18–25. (In Russ.)
- Жмакин, А.И. (2008). Физические основы криобиологии. *Успехи физических наук*, 178(3), 243–266.
- Zhmakin, A.I. (2008). Physical foundations of cryobiology. *Advances in Physical Sciences*, 178(3), 243–266. (In Russ.)
- Зырянов, А.А., Шереметьев, М.В., Пронин, С.П., & Зрюмова, А.Г. (2012). Визуальное исследование кристаллизации водных растворов. *Ползуновский альманах*, 2, 140–141.
- Zyryanov, A.A., Sheremetyev, M.V., Pronin, S.P., & Zryumova, A.G. (2012). Visual study of the crystallization of aqueous solutions. *Polzunovsky Almanac*, 2, 140–141. (In Russ.)
- Зацепина, Г.И. (1974). *Свойства и структура воды*. Москва: Издательство Московского университета.
- Zatsepina, G.I. (1974). *Properties and structure of water*. Moscow: Moscow University Press. (In Russ.)
- Красильникова, А. А. (2021). Криоконсервация репродуктивных клеток рыб при сверхвысоких скоростях охлаждения. *Труды Южного научного центра Российской академии наук*, 9, 44–51.
- Krasilnikova, A.A. (2021). Cryopreservation of fish reproductive cells at ultra-high cooling rates. *Proceedings of the Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 9, 44–51. (In Russ.)
- Коляда, М.Н., Осипова, В.П., & Пономарева, Е. Н. (2022). Роль антиоксидантов в повышении криорезистентности спермы осетровых. В *Изучение водных и наземных экосистем: история и современность: Тезисы докладов II Международной научно-практической конференции*. Севастополь.
- Kolyada, M.N., Osipova, V.P., & Ponomareva, E.N. (2022). The role of antioxidants in increasing the cryoresistance of sturgeon sperm. In *Studying aquatic and terrestrial ecosystems: history and modernity: Abstracts of the II International Scientific and Practical Conference*. Sevastopol. (In Russ.)
- Красильникова, А. А. (2019). Оптимизация процесса подготовки репродуктивных клеток самцов рыб к криоконсервации. *Вестник рыбохозяйственной науки*, 6(4), 63–69.
- Krasilnikova, A.A. (2019). Optimization of the process of preparing male fish reproductive cells for cryopreservation. *Bulletin of Fisheries Science*, 6(4), 63–69. (In Russ.)
- Максименко, В.А., & Буханцов, К.Н. (2022). Расчет и выбор параметров электромагнита для обеззараживающего устройства зерна и семян. *Тракторы и сельскохозяйственные машины*, 89(3), 223–232.
- Maksimenko, V.A., & Bukhantsov, K.N. (2022). Calculation and selection of parameters of an electromagnet for a grain and seed disinfecting device. *Tractors and Agricultural Machinery*, 89(3), 223–232. (In Russ.)
- Пахомов, А.И., Максименко, В.А., Буханцов, К.Н., & Ватутина, Н.П. (2021). Исследование обеззараживающих свойств низкочастотных электромагнитных колебаний. *Техника и оборудование для села*, 9, 9–11.
- Pakhomov, A.I., Maksimenko, V.A., Bukhantsov, K.N., & Vatutina, N.P. (2021). Study of the disinfecting properties of low-frequency electromagnetic oscillations. *Equipment and Technology for the Village*, 9, 9–11. (In Russ.)
- Пиментел, Д.К., & Мак-Клеллан О.Л. (1964). Водородная связь. Москва: Мир.
- Pimentel, D.K., & McClellan, O.L. (1964). *Hydrogen bond*. Moscow: Mir Publishers. (In Russ.)

- Пономарева Е.Н., Красильникова А.А., Белая М.М., & Коваленко М.В. (2022). Сохранение биологического разнообразия методами криоконсервации: Опыт Южного научного центра РАН. *Морской биологический журнал*, 7(3), 80–87.
- Ponomareva, E.N., Krasilnikova, A.A., Belaya, M.M., & Kovalenko, M.V. (2022). Conservation of biological diversity by cryopreservation methods: Experience of the Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. *Marine Biological Journal*, 7(3), 80–87. (In Russ.)
- Пономарева, Е.Н., Неваленный, А.Н., Белая, М.М., & Красильникова, А.А. (2017). Использование криоконсервированной спермы для формирования маточного стада стерляди. *Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство*, 4, 118–127. <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2017-4-118-127>
- Ponomareva, E.N., Nevalenny, A.N., Belaya, M.M., & Krasilnikova, A.A. (2017). Use of cryopreserved sperm for forming the breeding stock of sterlet. *Bulletin of the Astrakhan State Technical University. Series: Fisheries*, 4, 118–127. (In Russ.) <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2017-4-118-127>
- Сторожева, Н.Н. (2006). Влияние длительного хранения семян сельскохозяйственных культур в условиях толщи многолетнемерзлых грунтов на жизнеспособность и фенотипическую изменчивость [Дис. канд. с.-х. наук]. Якутский НИИ сельского хозяйства.
- Storozheva, N.N. (2006). *The effect of long-term storage of agricultural crop seeds in permafrost conditions on viability and phenotypic variability* [Candidate of Agricultural Sciences dissertation]. Yakut Scientific Research Institute of Agriculture. (In Russ.)
- Чебанов, М.С., Галич, Е.В., & Чмырь, Ю.Н. (2004). *Руководство по разведению и выращиванию осетровых рыб*. Москва: ФГБНУ «Росинформагротех».
- Chebanov, M.S., Galich, E.V., & Chmyr, Yu.N. (2004). *Guide to the breeding and cultivation of sturgeon fish*. Moscow: Rosinformagrotech. (In Russ.)
- Шавлов, А.В., Рябцева, А.А., & Шавлова, В.А. (2007). "Сверхскользящий" лед для конькобежного спорта. *Криосфера Земли*, 11(2), 49–59.
- Shavlov, A.V., Ryabtseva, A.A., & Shavlova, V.A. (2007). "Super slippery" ice for speed skating. *Earth's Cryosphere*, 11(2), 49–59. (In Russ.)
- Шавлов, А.В. (2005) Электрический потенциал кристаллизации воды и растворов. Ионная модель. *Журнал физической химии*, 79(8), 1437–1441.
- Shavlov, A.V. (2005). The electric potential of water and solutions crystallization. Ionic model. *Journal of Physical Chemistry*, 79(8), 1437–1441. (In Russ.)
- Шац, М.М. (2019). Хранение семенного материала в низкотемпературных условиях. *Аграрная наука*, 6, 42–49. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-329-6-42-49>
- Shats, M.M. (2019). Storage of seed material in low-temperature conditions. *Agrarian Science*, 6, 42–49. (In Russ.) <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-329-6-42-49>
- Шибков, А.А., Желтов, М.А., & Королев, А.А. (2001). Растущий лед — источник электромагнитного излучения. *Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки*, 6(2), 162–169.
- Shibkov, A.A., Zheltov, M.A., & Korolev, A.A. (2001). Growing ice — a source of electromagnetic radiation. *Bulletin of Tambov University. Series: Natural and Technical Sciences*, 6(2), 162–169. (In Russ.)
- Andreev, A.A., Sadikova, D.G., Gakhova, E.N., Pashovkin, T.N., & Tikhomirov, A.M. (2009). Congelation of cryoprotective solutions and cryopreservation of fish sperm. *Biophysics*, 54(5), 612–616. <https://doi.org/10.1134/S0006350909050108>
- Andreev, A.A., Sadikova, D.G., Labbe, C., Ananiev V.I., & Kurchikov, A.L. (2008). Influence of lipids on ice formation in cryoprotective media. *Biophysics*, 53(4), 283–285. <https://doi.org/10.1134/S0006350908040076>
- Chetverikova, E. P. (2008). Dehydration in cryopreservation of moist plant tissues and seed maturation. *Biophysics*, 53 (4). 304–307. <https://doi.org/10.1134/S0006350908040131>
- Firsova, A., Ponomareva E., Krasilnikova, A., & Belaya, M. (2021). Study of the properties of the ovarian fluid of the Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt, 1833) during freezing. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. International Scientific Conference "Fundamental and Applied Scientific Research in the Development of Agriculture in the Far East" (AFE-2021)* (vol. 937, 022012). IOP Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/937/2/022012>
- Kobelev, A.V., Shishova, N.V., Ugraitskaya, S.V., Zalomova, L.V., Yashin, V.A., Penkov, N.V., & Fesenko, E.E. (2021). The effect of gases on the structural integrity of ice that forms when water and cryoprotective solutions are frozen: An optical-microscope study. *Biophysics*, 66 (5), 716–725. <https://doi.org/10.1134/S0006350921050092>
- Ponomareva E., Firsova A., Kovalenko M., Polovinkina M., Kuzov A., Alexandrova U., & Pakhomov V. (2023). Application of piezoactuators in the technology of low-temperature preservation of fish reproductive cells. In *E3S Web of Conferences: International Scientific and Practical Conference «Development and Modern Problems of Aquaculture» (AQUACULTURE 2022)* (vol. 381, p. 01074). EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202338101074>
- Ponomareva, E. N., Firsova, A.V., Tikhomirov, A.M., & Andreev, A.A. (2020). Formation of ice microparticles in the ovarian fluid and homogenates of unfertilized Russian sturgeon eggs during cooling to –196°C. *Biophysics*, 65(3), 468–471. <https://doi.org/10.1134/S0006350920030173>
- Rusco, G., Iorio, M.D., Iaffaldano, N., Gibertoni, P.P., Esposito, S., Penserini, M., Roncarati, A., & Cerolini, S. (2019). Optimization of sperm cryopreservation protocol for mediterranean brown trout: A comparative study of non-permeating cryoprotectants and thawing rates in vitro and in vivo. *Animals*, 9(6), 304. <https://doi.org/10.3390/ani9060304>