

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ СОСТАВОМ ПРИРОДНОЙ ВОДЫ И СОСТОЯНИЕМ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ

© 2024 г. Л.Н. Шишкина*, А.С. Дубовик*, В.О. Швыдкий*, М.В. Козлов*,
Е.В. Штамм**, А.Г. Георгиади***

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, ул. Косыгина, 4, Москва, 119334, Россия
E-mail: shishkina@sky.chph.ras.ru

**Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН,
ул. Косыгина, 4, Москва, 119334, Россия

*** Институт географии РАН, Старомонетный переулок, 29, Москва, 119017, Россия

Поступила в редакцию 25.01.2024 г.

После доработки 25.01.2024 г.

Принята к публикации 07.02.2024 г.

Изучены взаимосвязи между составом компонентов пяти образцов природной воды и состоянием параметров системы регуляции перекисного окисления липидов модельной системы на основе природных фосфолипидов, а также их участие в формировании токсичности природной воды. Показано, что присутствие N- и P-содержащих соединений в пробах природной воды приводит к ингибированию процессов автоокисления лецитина и интенсивности люминесценции светящихся бактерий, оказывает существенное влияние на спонтанную агрегацию лецитина, а рост содержания гидрофобных соединений увеличивает отрицательное значение ξ -потенциала его частиц. Высокая чувствительность параметров системы регуляции перекисного окисления липидов к наличию компонентов в природной воде даже в малых концентрациях позволяет рассматривать их в качестве перспективных тестов для оценки влияния природной воды на биологические объекты. Математическая обработка ультрафиолетовых спектров проб природной воды по методу Гаусса может быть использована в качестве экспресс-теста для анализа ее гидрохимического состава. Влияние компонентов природной воды на состояние мембран биологических объектов и внутриклеточные процессы подтверждено методами биотестирования.

Ключевые слова: природная вода, гидрохимические показатели, перекисное окисление липидов, регуляция, лецитин, УФ-спектрометрия, метод Гаусса, биотестирование.

DOI: 10.31857/S0006302924020161, EDN: OTRCGX

Несмотря на то что исследования структурированности воды, обусловленной ее способностью образовывать водородные связи, начались давно [1–3], они не утратили своей актуальности до сих пор [4]. С одной стороны, это связано с образованием в высокоразбавленных растворах присутствующими в воде соединениями наноассоциатов, что обуславливает их физико-химические и биологические свойства [5–7]. С другой стороны, биологически активные вещества и физические факторы низкой интенсивности харак-

теризуются широким спектром биологической активности при воздействии на биологические объекты даже в фоновых концентрациях [8–11].

Вода, обладающая высокой диэлектрической проницаемостью, является уникальным растворителем. Это создает условия для присутствия в природной воде огромного количества соединений от неорганических ионов до микроорганизмов. Необходимо также иметь в виду, что возрастание антропогенной нагрузки на биоту и способность химических токсикантов перемещаться на значительные расстояния от источников загрязнения оказывают существенное влияние на многокомпонентный состав и концентрацию растворенных в природной воде соединений, способных вызывать различные биологические эффекты при поступлении их в организм. Не-

Сокращения: ПОЛ – перекисное окисление липидов, ХПК – химическое потребление кислорода, БПК – биологическое потребление кислорода, ФЛ – фосфолипиды, ТБК-АП – ТБК-активные продукты (продукты окисления, реагирующие с 2-тиобарбитуровой кислотой), УФ – ультрафиолетовый.

предсказуемость совместного действия разных факторов, особенно в низких концентрациях, обуславливает необходимость поиска метаболически важных показателей, изменения которых позволили бы адекватно оценить последствия их воздействия на биообъекты.

Окислительные процессы играют важную роль как в регуляции метаболизма в биологических системах разной сложности, так и в формировании баланса окислительно-восстановительных процессов в природной воде [12, 13]. Выявленная ранее высокая чувствительность параметров физико-химической системы регуляции перекисного окисления липидов (ПОЛ) в тканях лабораторных мышей к воздействию различных токсикантов в малых дозах [14, 15] и возможность использования модельных систем на основе природных липидов для оценки качества водной среды [16] позволяют предложить использования данных подходов для выявления взаимосвязей в системе «природная вода — биообъект».

Целью работы явилось изучение взаимосвязи между гидрохимическими показателями и состоянием параметров физико-химической системы регуляции ПОЛ модельных биологических систем и токсичностью природной воды рек Среднерусской равнины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пробы воды отбирали из поверхностного слоя (глубина 10 см, объем 500 мл) рек Среднерусской равнины в летний период и хранили в холодильнике, добавив в каждую пробу 1 мл хлороформа для фиксации. Места и дата отбора проб приведены в табл. 1. Для удаления механических примесей пробы воды фильтровали и определяли рН и гидрохимические показатели: количество общего азота ($N_{\text{общ}}$) в соответствии с РД 52.24.364-2007, содержание аммонийного азота (NH_4^+) фотометрически с реактивом Несслера (метод А) при 425 нм, содержание нитритов (NO_2^-) фотометрически при 540 нм с реактивом Грисса, количество ортофосфатов (PO_4^{3-}) и общего фосфора ($P_{\text{общ}}$) по ГОСТ 18309-2014, варианты Б и В.

Для определения химического потребления кислорода (ХПК), т.е. количества кислорода, требующегося для окисления находящихся в воде органических и неорганических восстановителей, аликвоты проб объемом 100 мл фиксировали 1 мл 4 мМ серной кислоты и далее хранили в морозильной камере холодильника (-18°C) с последующим определением по ГОСТ 13859-2012. Для определения биологического потребления кислорода (БПК), т.е. количества кислорода, необходимого для окисления органических веществ в аэробных условиях, пробы хранили без доступа

света при 20°C в течение 5 суток и анализировали в соответствии с РД 52.24.420-2006.

В качестве модельной системы природных фосфолипидов (ФЛ) использовали 10%-ный раствор соевого лецитина в этаноле («БИОЛЕК», Харьков, Украина). После вскрытия ампулы и отгонки этанола лецитин растворяли либо в хлороформе (для определения состава липидов), либо в дистиллированной воде (для мицеллообразования). Качественный состав липидов лецитина определяли методом тонкослойной хроматографии, используя стеклянную пластинку размером 90×120 мм, силикагель типа Н (Sigma, США) и смесь хлороформ : метанол : ледяная уксусная кислота : дистиллированная вода в объемном соотношении 12.5 : 7.5 : 2 : 1 в качестве мобильной фазы [17]. На пластинку наносили пять параллельных дорожек. Хроматограмму проявляли в парах йода. После удаления пятен ФЛ с пластинки и сжигания их хлорной кислотой до неорганического фосфора количественный анализ состава ФЛ проводили по образованию фосфомолибденового комплекса в присутствии аскорбиновой кислоты при длине волны 815 нм на спектрофотометре ПЭ 5400ВИ (ООО «ЭКРОСХИМ», Россия). Подробности методики приведены в работе [9]. Помимо количественного соотношения фракций, ФЛ оценивали также обобщенные показатели состава липидов: доля (%) ФЛ и отношение сумм более легкоокисляемых и более трудноокисляемых фракций ФЛ ($\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$), характеризующее способность липидов к окислению [18]. Отношение $\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$ вычисляли по формуле:

$$(\text{ФИ} + \text{ФС} + \text{ФЭ} + \text{КЛ} + \text{ФК})/(\text{ЛФХ} + \text{СЛ} + \text{ФХ}),$$

где ФИ — фосфатидилинозит, ФС — фосфатидилсерин, ФЭ — фосфатидилэтаноламин, КЛ — кардиолипид, ФК — фосфатидная кислота, ЛФХ — лизоформы ФЛ, СЛ — сфинголипиды, ФХ — фосфатидилхолин.

Ультрафиолетовые (УФ) спектры проб природной воды, разбавленных в два раза дистиллированной водой, регистрировали на спектрофотометре Shimadzu UV-1700 (PharmaSpec, Shimadzu, Япония) в диапазоне длин волн от 200 до 400 нм. Полученные УФ-спектры подвергали математической обработке по методу Гаусса в программе Excel solver при условии совпадения контура исходного спектра с расчетным после аппроксимации на уровне $10^{-3} - 10^{-5}$.

Содержание вторичных продуктов окисления, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активные продукты, ТБК-АП), определяли при длине волны 532 нм на спектрофотометре ПЭ 5400ВИ (ООО «ЭКРОСХИМ», Россия) по методу [19] и относили к 1 мг лецитина.

Таблица 1. Место и дата отбора проб природной воды и pH воды

№ пробы	Место отбора	Дата отбора	pH
Проба 1	р. Ока, район Колычево, г. Коломна, Московская область	26.07.2022	7.90
Проба 2	р. Верда, выше г. Скопин, Рязанская область	28.07.2022	6.70
Проба 3	р. Пра, Брыкин бор, Окский биосферный заповедник, Рязанская область	29.07.2022	8.50
Проба 4	р. Воймега, выше г. Рошаль, Шатурский район. Московская область	30.07.2022	8.20
Проба 5	р. Дубна, около д. Юркино, Талдомский район, Московская область	14.08.2022	7.95

Размер и дзета-потенциал (ξ -потенциал) агрегатов лецитина в дистиллированной и в природной воде определяли методом динамического рассеяния света на приборе Zetasizer Nano-ZS (Malvern Instruments Ltd., Великобритания) при температуре 25°C и угле рассеяния 173°. Источником света являлся гелий-неоновый лазер с длиной волны 633 нм. Концентрация лецитина составляла $4.3 \cdot 10^{-5}$ М. Сбор данных и первичную обработку осуществляли с помощью программы Zetasizer Software 6.20 (Malvern Instruments Ltd., Великобритания). Каждое измерение повторяли не менее пяти раз.

Токсичность проб воды (T) оценивали, используя две модельные системы: биотест «ЭКО-ЛЮМ» (ЗАО «НВО Иммунотех», Москва, Россия) и инфузории *Tetrahymena pyriformis* (штамм WH14) из коллекции Всероссийского НИИ санитарии и экологии (Москва, Россия). Препарат «ЭКОЛЮМ» представляет собой раствор лиофилизированных светящихся бактерий в 0.3%-ном хлориде натрия. Интенсивность биолюминесценции регистрировали спустя 5 и 30 мин экспозиции с помощью биолюминометра 8810 (СКТБ «Наука», Красноярск, Россия). Количественную оценку тест-реакции, выраженную в %, рассчитывали по формуле:

$$T = 100 \times (I_0 - I) / I_0,$$

где I_0 и I – интенсивность биолюминесценции 1.5%-го раствора NaCl в дистиллированной и природной воде соответственно. Острую токсичность природной воды определяли в соответствии с ПНД ФТ ($K, \%$) по приросту числа клеток *Tetrahymena pyriformis* спустя 20 ч экспозиции в 0.15%-ном NaCl в природной и дистиллированной воде ($K = A_{\text{оп}} / A_{\text{контр}}$) соответственно с помощью программно-технического автоматизированного комплекса биотестирования «БиоЛаТ-3» (ООО «Евролитест», Москва, Россия).

Экспериментальные данные обрабатывали стандартными статистическими методами, используя программный продукт MS Excel и пакет компьютерных программ KINS [20]. Данные представлены в виде средних арифметических

значений с указанием их среднеквадратичных ошибок ($M \pm m$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первым этапом работы явился анализ состава и физико-химических свойств проб речной воды из пяти рек Московской и Рязанской областей. Значения pH проб воды и их гидрохимические показатели приведены в табл. 1 и 2. Величины pH исследованных проб речной воды варьируют от слабокислых до щелочных значений (табл. 1), что соответствует ранее полученным данным для проб природной воды из Воронежской и Московской областей [16].

Безусловно, гидрохимический состав исследованных образцов природной воды существенно зависит от места отбора проб (табл. 2). Даже визуально пробы № 2, № 3 и № 4 имеют слабую коричневатую окраску разной интенсивности. Необходимо обратить внимание, что соотношение неорганических и органических N- и P-содержащих соединений также обусловлено различиями протекающих в водной среде гидрохимических и биологических процессов. Так, в исследованных образцах № 2 и № 4 выявлено высокое количество N-содержащих веществ, среди которых преобладают органические соединения (табл. 2). Количество P-содержащих соединений в исследованных образцах существенно меньше, чем N-содержащих соединений. При этом в образцах № 3 и № 4 среди P-содержащих веществ преобладают неорганические фосфаты, а в природной воде р. Ока (образец № 1) количество P-содержащих органических соединений почти в 1.5 раза выше, чем фосфатов (табл. 2). Необходимо отметить также, что в исследованных пробах содержание нитритов превышает предельно допустимую концентрацию (ПДК) только в образцах № 2 и № 5, а NH_4 -содержащих веществ и фосфатов – в образце № 4. Обнаружено, что значения ХПК (табл. 2) проб №3 и №4, характеризующихся повышенным содержанием фосфатов, существенно превышают предельно допустимые нормативные показатели для общего водопотребления, а в остальных пробах величины ХПК ниже нормативных значений (ПДК<30). Однако значения

Таблица 2. Значения химического и биологического потребления кислорода и гидрохимические показатели проб природной воды

Показатель	р. Ока (проба № 1)	р. Верда (проба № 2)	р. Пра (проба № 3)	р. Воймега (проба № 4)	р. Дубна (проба № 5)
ХПК, мг/л	22.2 ± 3.6	20.8 ± 0.5	63.8 ± 1.2	75.0 ± 15.0	28.6 ± 2.5
БПК, мг/л	3.2 ± 1.2	1.5 ± 0.6	2.6 ± 1.0	0.7 ± 0.3	—
[N _{общ.}], мг/л	0.24 ± 0.07	1.60 ± 0.4	0.87 ± 0.26	1.38 ± 0.41	—
[NO ₂ ⁻], мг/мл	0.015 ± 0.005	0.055 ± 0.024	0.004 ± 0.004	0.003 ± 0.003	0.090 ± 0.010
[NH ₄ ⁺], мг/мл	0.180 ± 0.037	0	0.540 ± 0.076	0.410 ± 0.058	0.113 ± 0.039
[P _{общ.}], мг/л	0.263 ± 0.078	0.035 ± 0.014	0.322 ± 0.097	0.431 ± 0.103	—
[PO ₄ ³⁻], мг/л	0.105 ± 0.005	0.022 ± 0.002	0.171 ± 0.021	0.316 ± 0.036	0.187 ± 0.014

БПК (табл. 2) соответствуют величинам, характерным для поверхностных вод (БПК < 4.0), что, очевидно, обусловлено относительно низким содержанием органических веществ в исследуемых образцах природной воды.

Различия в составе проб природной воды четко выявляются и при математическом анализе их УФ-спектров по методу Гаусса. Типичные УФ-спектры природной воды и их гауссианы приведены на рис. 1 и 2. В образце № 1 (рис. 1) выявлены максимумы полос поглощения, характерные для гидрофобных соединений, в том числе и липидной природы ($\lambda = 200$ нм), соединений с сопряженными двойными связями ($\lambda = 231$ нм), N-содержащих соединений ($\lambda = 257$ нм) и P-содержащих веществ ($\lambda = 333$ нм). Природная вода образца № 4 характеризуется не только повышенным содержанием, но и большим набором ком-

понентов (рис. 2). В этом образце присутствуют гидрофобные соединения ($\lambda = 198$ нм), свободные жирные кислоты ($\lambda = 216$ нм), соединения с сопряженными двойными связями ($\lambda = 233$ нм) и P-содержащие органические и неорганические соединения ($\lambda > 300$ нм).

В табл. 3 представлены основные максимумы полос поглощения в УФ-спектрах исследованных образцов природной воды. Сопоставление данных табл. 2 и 3 свидетельствует о том, что максимумы гауссиан и природа компонентов образцов воды соответствуют содержанию в них гидрохимических показателей. Следовательно, анализ УФ-спектров и их математическая обработка по методу Гаусса могут быть предложены в качестве экспресс-метода оценки состава природной воды.

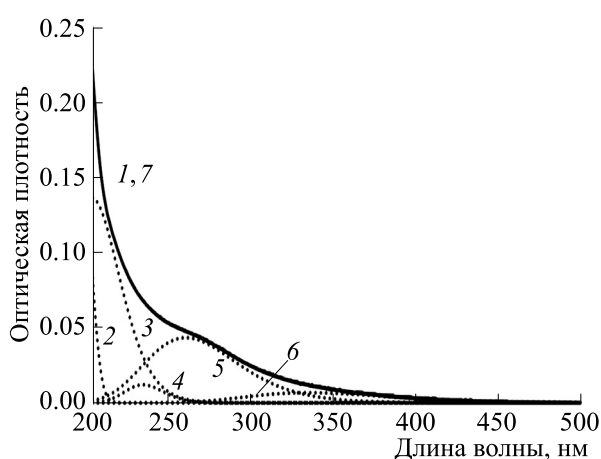


Рис. 1. УФ-спектр природной воды р. Ока (проба № 1) и его гауссианы: кривые 1 и 7 — исходный и расчетный спектры, кривая 2 — 195 нм, кривая 3 — 199.6 нм, кривая 4 — 231.0 нм, кривая 5 — 257.4 нм, кривая 6 — 333.0 нм.

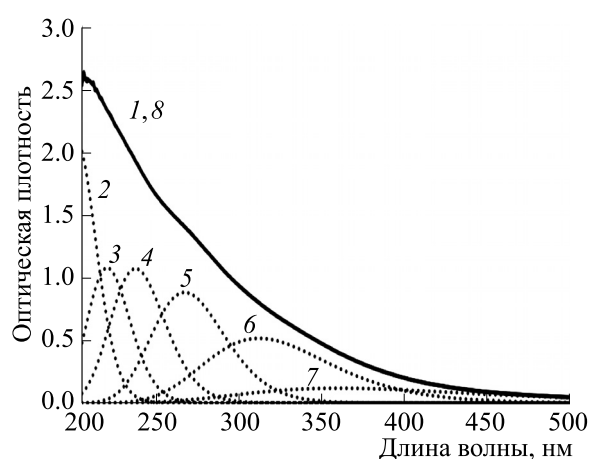


Рис. 2. УФ-спектр природной воды р. Воймега (проба № 4) и его гауссианы: кривые 1 и 8 — исходный и расчетный спектры, кривая 2 — 196.7 нм, кривая 3 — 215.5 нм, кривая 4 — 232.9 нм, кривая 5 — 263 нм, кривая 6 — 308.9 нм, 7 — кривая 358.3 нм.

Таблица 3. Оптическая плотность и длина волны максимумов полос поглощения УФ-спектров исследованных образцов природной воды

Образец	Оптическая плотность/длина волны, нм
№ 1	0.136/199.6
	0.012/231.0
	0.043/257.4
	0.007/333.
№ 2	0.232/195.3
	0.088/206.4
	0.072/216.7
	0.014/256.4
	0.030/263.2
№ 3	1.534/193.8
	0.861/210.1
	0.847/226.9
	0.677/254.8
	0.110/357.5
№ 4	2.09/196.7
	1.074/215.5
	1.071/232.9
	0.878/263.2
	0.516/308.9
	0.115/358.3
№ 5	0.694/192.8
	0.097/212.6
	0.031/227.7
	0.046/249.6
	0.045/268.8

В работах [15, 16] было экспериментально показано, что соевый лецитин является адекватной модельной системой для оценки как влияния компонентов водной среды на биологические объекты, так и качества природной воды. Однако высокая лабильность липидного компонента любых природных объектов обуславливает необходимость контролировать состав липидов конкретного образца. Количественное соотношение фракций ФЛ в использованном образце лецитина приведено в табл. 4.

При спонтанной агрегации в дистиллированной воде данная партия лецитина образует основную фракцию частиц ($82.2 \pm 0.8\%$) со средним диаметром 780 ± 40 нм, в то время как $17.6 \pm 1.0\%$ частиц имеют средний диаметр 130 ± 13 нм. При-

родная вода оказывает существенное влияние на спонтанную агрегацию лецитина. Так, в присутствии образцов воды № 1, № 2 и № 5 лецитин образует практически одну фракцию частиц, доля которой варьирует от $91.4 \pm 1.5\%$ до 100% , а средний диаметр — от 1125 ± 40 нм до 1245 ± 65 нм. В присутствии же проб из р. Пра (образец № 3) и р. Воймега (образец № 4), в воде которых практически отсутствуют нитриты и обнаружено наиболее высокое содержание аммонийного азота (табл. 2), выявлено резкое уменьшение доли основной фракции агрегатов лецитина до $64.3 - 65.7\%$, средний диаметр которых составляет 610 ± 40 нм и 595 ± 90 нм соответственно. Типичные кривые распределения размера агрегатов лецитина в водной среде представлены на рис. 3.

Наиболее существенное влияние природная вода оказывает на электрофоретические свойства агрегатов лецитина, вызывая значительное уменьшение отрицательного значения его ξ -потенциала. Так, выявлен рост отрицательной величины ξ -потенциала от -11.0 ± 0.5 мВ (образец № 2) до -18.9 ± 0.5 мВ (образец № 4) с увеличением содержания гидрофобных соединений в пробах природной воды (рис. 4), в то время как у агрегатов данной партии лецитина аналогичное значение составляет -26.5 ± 0.6 мВ.

Помимо влияния на структурное состояние биологических мембран, компоненты природной воды вызывают изменение интенсивности окислительных процессов. Доля ФЛ в данном образце лецитина составляла $83.1 \pm 3.0\%$ ($n = 7$), а способность его липидов к окислению $\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ} = 0.025 \pm 0.001$ ($n = 5$). Поскольку именно ФЛ являются основным субстратом ПОЛ в биологических объектах, то закономерно, что данная партия лецитина характеризуется высокой интенсивностью окисления ($[\text{ТБК-АП}] = 12.3 \pm 0.6$ нмоль·мл⁻¹·мг⁻¹), а его липиды — достаточно высокой окисляемостью. Обнаружено, что все исследованные образцы природной воды вызывают достоверное уменьшение интенсивности ПОЛ низкотемпературного автоокисления лецитина (табл. 5), наиболее выраженное в присутствии воды рек Ока, Верда и Дубна (образцы № 1, № 2 и № 5). Именно эти образцы природной воды характеризуются низкими значениями ХПК (табл. 2) и, следовательно, содержат более низкие концентрации неорганических и органических восстановителей, чем пробы воды № 3 и № 4.

Таблица 4. Количественное соотношение фракций в составе фосфолипидов лецитина

Фракция ФЛ	ЛФХ	СЛ	ФХ	ФИ + ФС	ФЭ	КЛ + ФК
%Р	5.50 ± 0.55	5.80 ± 0.85	86.25 ± 0.85	1.38 ± 0.13	0.82 ± 0.07	0.24 ± 0.03

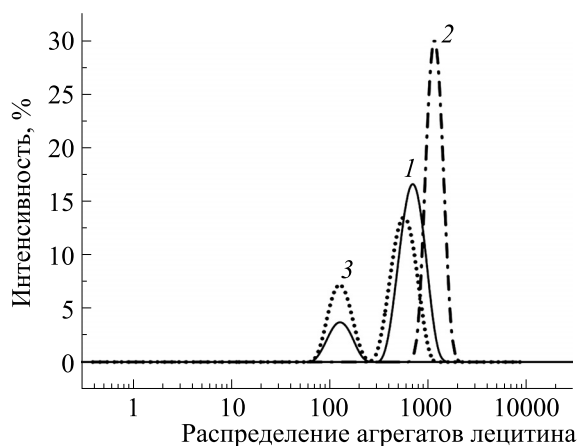


Рис. 3. Кривые распределения агрегатов лецитина в дистиллированной воде (кривая 1) и в природной воде р. Дубна (кривая 2, проба № 5) и р. Пра, (кривая 3, проба № 3) по интенсивности рассеяния. Концентрация лецитина $4.3 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

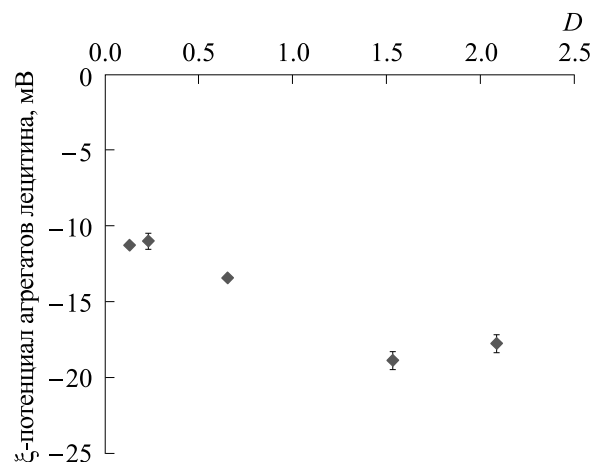


Рис. 4. Зависимость величины ξ -потенциала агрегатов лецитина от содержания гидрофобных соединений (оптическая плотность максимумов полос поглощения при $\lambda = 195.6 \pm 1.2$ нм) в пробах природной воды.

Для выявления влияния компонентов природной воды на мембранные и внутриклеточные процессы в биологических системах были использованы методы биотестирования. Как полагают, тест-реакция с препаратом «ЭКОЛЮМ» при экспозиции в течение 5 мин обусловлена влиянием исследуемого образца водной среды на мембранную систему биообъекта. Показано наличие прямой корреляции между интенсивностью биолюминесценции и накоплением ТБК-АП при инициации ПОЛ Fe^{2+} [21]. Сравнительный анализ данных табл. 2 и 5 свидетельствует о том, что низкой интенсивности автоокисления лецитина в присутствии проб воды № 1 и № 2 соответствует и уменьшение интенсивности биолюминесценции препарата «ЭКОЛЮМ» при экспозиции в течение 5 мин практически в два раза. Однако вода р. Дубна (проба № 5), содержание

нитритов и фосфатов в которой значительно выше, чем в пробах № 1 и № 2, практически не оказывает влияние на интенсивность препарата «ЭКОЛЮМ» при экспозиции в течение 5 мин (табл. 5). Очевидно, при автоокислении лецитина взаимосвязь между интенсивностью биолюминесценции и накоплением продуктов ПОЛ имеет более сложный характер. Это предположение подтверждают уменьшение в два-два с половиной раза содержания ТБК-АП при автоокислении лецитина в присутствии проб воды № 3 и № 4 с высоким содержанием N- и P-содержащих веществ и практически отсутствие их влияния на интенсивность биолюминесценции при экспозиции в течение 5 мин (табл. 2 и 5).

О влиянии проб природной воды на внутриклеточные процессы свидетельствуют и резкое уменьшение интенсивности биолюминесцен-

Таблица 5. Влияние проб природной воды на интенсивность окисления лецитина и показатели биотестов

Показатель	р. Ока (проба № 1)	р. Верда (проба № 2)	р. Пра (проба № 3)	р. Воймега (проба № 4)	р. Дубна (проба № 5)
[ТБК-АП], Опыт/контр.	0.147 ± 0.009	0.128 ± 0.008	0.403 ± 0.024	0.495 ± 0.030	0.147 ± 0.009
«ЭКОЛЮМ», 5 мин, Т, %	45.5	55.3	2.4	2.8	–5.8
«ЭКОЛЮМ», 30 мин, Т, %	89.3	92.7	28.4	45.9	–13.7
<i>Tetrahymena pyri-</i> <i>formis</i> , К, %	0.55	0.49	0.34	0.85	0.31

ции препарата «ЭКОЛЮМ» при экспозиции в течение 30 мин (образцы № 1, № 2 № 3), и существенное уменьшение прироста клеток *Tetrahymena pyriformis* в опытных образцах № 1, № 2, № 3 и № 5 (табл. 5). Отсутствие прямой корреляции между параметрами T и K , характеризующими степень токсичности проб, позволяет предположить участие проб природной воды на разных стадиях регуляции внутриклеточных процессов в зависимости от состава и физико-химических свойств ее компонентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, совокупность полученных данных и анализ литературы последних лет свидетельствуют о перспективности использования показателей системы регуляции окислительных процессов для оценки взаимосвязей в системе «природная вода — биологический объект» вследствие их высокой чувствительности к наличию компонентов в природной воде даже в малых дозах. Так, содержание N- и P-содержащих соединений в образцах природной воды ингибирует процессы автоокисления лецитина и интенсивность люминесценции светящихся бактерий, оказывает существенное влияние на спонтанную агрегацию лецитина, а рост содержания гидрофобных соединений увеличивает отрицательное значение ξ -потенциала его частиц. Регистрация УФ-спектров проб природной воды с последующей их математической обработкой по методу Гаусса может быть рекомендована в качестве экспресс-метода оценки гидрохимического состава проб воды, а их влияние на спонтанную агрегацию лецитина и величину ξ -потенциала агрегатов позволяет оценить воздействие проб воды на структурное состояние и электрофоретические свойства мембран биообъектов. Влияние компонентов природной воды на состояние мембран биологических объектов и внутриклеточные процессы подтверждено использованием методов биотестирования.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного задания Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля (44.4 гос. № темы 0084-2019-0014) и частично поддержана Договором №111-22 с Институтом географии РАН.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Eistnberg D. S. and Kauzmann W, *Structure and Properties of Water*. (Oxford University Press, New York, 1969).
2. Зенин С. В. Исследование структуры воды методом протонного магнитного резонанса. *Докл. РАН*, **332** (3), 328–329 (1993).
3. Schindler T, Berg C., Niedner-Schatterburg G., and Bondybey V. E. Reactions of water clusters $H+(H_2O)_n$, $n=3-75$, with diethyl ether. *Chem. Phys.* **201** (2–3), 491–496 (1995). DOI: 10.1016/0301-0104(95)00288X
4. Смирнов А. Н., Савин А. В. и Сигов А. С., Структурные превращения в жидкой воде. *Биофизика*, **65** (2), 408–411 (2020). DOI: 10/31867/S0006302920010258
5. Коновалов А. И. и Рыжкина И.С. Образование наноассоциатов — ключ к пониманию физико-химических и биологических свойств высокоразбавленных водных растворов. *Изв. АН. Сер. химическая*, № 1, 1–14 (2014).
6. Konovalov A. I., Mal'tseva E. L., Ryzkina I. S., Mur-tazina L. I., Kiseleva Yu. V., Kasparov V. V., Pal'mina N. P. Formation of nanoassociates is a factor determining physicochemical and biological properties of highly diluted solutions. *Dokl. Phys. Chem.*, **456** (2), 86–89 (2014). DOI: 10.1134/S00125012516114060050
7. Kononov L. Chemical tractivity and solution structure: on the way to a paradigm shift? *RSC Adv.*, **5**, 46718–46734 (2015).
8. Росс. хим. журн., **58** (5) (1999). (Номер посвящен эффектам, закономерностям и механизмам действия биологически активных веществ в сверхмалых дозах и физических факторов низкой интенсивности.)
9. Урнышева В. В. и Шишкина Л. Н. Влияние химических токсикантов в широком диапазоне концентраций на характеристики липидов эритроцитов крови мышей. *Биофизика*, **49** (3), 565–571 (2004).
10. Zhernovkov V. E., Roshchina I. A., Zubareva G. M., Shmatov G. P., Lokshin B. N., and Pal'mina N. P. The study of thyrotropin-releasing hormone effect in a wide concentration range on the aquifer system by IR-spectroscopy method. *Water*, **27**, 58–68 (2010).
11. Belov V. V., Belyaeva I. A., Shmatov G. P., Zubareva G. M., and Pal'mina N. P. *Dokl. Phys. Chem.*, **439** (1), 123–126 (2011). DOI: 10.1134/S0012401611070013

12. *Chemical and Biological Kinetics. New Horizons*. Vol. 2. *Biological Kinetics*. Ed. by E. B. Burlakova and S. D. Varfolomeev (VSP, Leden-Boston, 2005).
13. Shtamm E. V., Shvydkiy V. O., Skurlatov Yu. I., and Semenyak L. V. Role of water-soluble compounds of reduced sulfur in the toxic properties of the aquatic environment. In: *Antioxidants in systems of varying complexity. Chemical, biochemical and biological aspects*. Ed. by L. N. Shishkina, A. N. Goloshchapov, and L. I. Weisfeld (AAP, Toronto, 2020), pp. 119–138.
14. Кудяшева А. Г., Загорская Н. Г., Раскоша О. В. и Шишкина Л. Н. Регуляция окислительных процессов в органах мышей при действии химических и физических факторов в малых дозах. *Биофизика*, **66** (4), 741–749 (2021). DOI: 10.31857/S0006302921040141
15. Шишкина Л. Н., Козлов М. В., Повх А. Ю. и Швыдкий В. О. Роль перекисного окисления липидов в оценке последствий воздействия химических токсикантов на биообъекты. *Хим. физика*, **40** (9), 57–63 (2021). DOI: 10.31857/S0207401X21090089
16. Shvydkiy V., Dolgov S., Dubovik A., Kozlov M., Povkh A., Shishkina L., and Duca G. New Aspects for the Estimation of the State of the Natural Water. *Chem. J. Moldova*, **17** (2), 35–42 (2022). DOI: org/1019261/cjm.2022.973
17. *Биологические мембраны: методы*. Под ред. Дж. Б. С. Финдлея и В. Х. Эванза (Мир, М., 1990).
18. Шишкина Л. Н., Кушнирева Е. В. и Смотровая М. А. Новые подходы к оценке биологических последствий воздействия радиации в малых дозах. *Радиационная биология. Радиоэкология*, **44** (3), 289–295 (2004).
19. Asakawa T. and Matsushita S. Coloring conditions of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids*, **15** (3), 137–140 (1980).
20. Брин Э. Ф. и Травин С. О. Моделирование механизма химических реакций. *Хим. физика*, **10** (6), 830–837 (1991).
21. Берия Л. В., Исмаилов А. Д. и Данилов В. С. Стимуляция биолюминесцентной активности бактериальной люциферазы продуктами Fe^{2+} -индуцированного перекисного окисления липидов. *Биохимия*, **56** (3), 477–485 (1991).

Interrelation between Composition of Natural Water and a State of Lipid Peroxidation Processes in Biological Objects

L.N. Shishkina*, A.S. Dubovik*, V.O. Shvydkiy*, M.V. Kozlov*,
E.V. Shtamm**, and A.G. Georgiadi***

*N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia

**N.N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences,
ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia

***Institute of Geography, Russian Academy of Sciences, Staromonetny per. 29, Moscow, 119017 Russia

The interrelation between the composition of components of five samples of natural water and state indices for the lipid peroxidation regulatory system in a model system based on the natural phospholipids was explored and involvement of natural phospholipids in the formation of the toxicity of the natural water was also studied. It is shown that the presence of N- and P-containing compounds in natural water samples leads to inhibition of the processes relevant to lecithin autooxidation and luminescence intensity of luminous bacteria, has a significant effect on the spontaneous aggregation of lecithin, while an increase in the content of hydrophobic compounds results in a higher negative value of the ξ potential of its particles. High sensitivity of the lipid peroxidation regulatory system to the presence of components even at low concentrations in the natural water makes it a promising tool to test the effect of natural water on biological objects. Mathematical processing of UV spectra of the natural water samples with the Gauss method can be used as an express test for the analysis of its hydrochemical composition. The effects of natural water components on the state of membranes of biological objects and intracellular processes are confirmed by means of biotesting methods.

Keywords: natural water, hydrochemical parameters, lipid peroxidation, regulation, lecithin, UV spectrometry, Gauss method, biotesting