

УДК 616.327.076.9:579

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЩОДО БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПРИРОДНОЇ МІНЕРАЛЬНОЇ ХЛОРИДНОЇ НАТРІЄВОЇ ВОДИ ЗА РІЗНИМИ СТРОКАМИ ЗБЕРІГАННЯ

О. М. Нікіпелова, С. Г. Гуца, С. І. Ніколенко, А. Ю. Кисилевська, А. В. Мокієнко  
Державна установа «Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології МОЗ України», м. Одеса

### Вступ

Стрімкий розвиток українського ринку фасованих МВ, нарощування його потужності, розширення асортименту та використання лікувально-столових мінеральних вод (МВ) у позакурортних умовах вимагає підвищення обсягу їх промислового фасування і тривалого зберігання. Підвищення якості і конкурентоспроможності на всіх рівнях виробництва, визнання української продукції за кордоном та гармонізація вимог чинних нормативних документів з міжнародними та європейськими стандартами, потребують проведення комплексних досліджень МВ для встановлення їх безпечності та якості [1, 2].

Сьогодні в Україні реалізується більше 75 найменувань мінеральних столових та більше 100 найменувань лікувально-столових МВ. За даними Українського державного центру стандартизації і контролю якості природних і преформованих засобів, як столові, так і лікувально-столові МВ можуть бути контаміновані *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, у них може відмічатися перевищення допустимих значень загального мікробного числа (ЗМЧ) при 37 °С, незалежно від того – насичені вони діоксидом вуглецю чи ні (насичення діоксидом вуглецю проводять з метою запобігання розвитку сапрофітної мікробіоти) [3]. Крім того, мікробний ценоз МВ включає аутохтонну мікробіоту, що є природною складовою МВ, і яка в залежності від геологічних умов кожного родовища чинить вплив на формування хімічного складу води [4]. Аутохтонна мікробіота не патогенна для організму людини, і є одним з найбільш цінних компонентів МВ, що обумовлено її здатністю продукувати біологічно активні речовини (амінокислоти, вітаміни, різноманітні гази, ферменти, антибіотики тощо) [5]. З іншого боку, у МВ можуть бути присутні мікроорганізми – такі, як залізо-, марганецьокиснювальні, стрептоміцети, дріжджі, мікроміцети, продукти метаболізму яких можуть погіршувати органолептичні показники води [6].

Однак, залишається не до кінця вивченим характер впливу продуктів метаболізму аутохтонної мікробіоти на біологічну активність мінеральних вод [7]. Між іншим, автори повідомляють, що до складу аутохтонної мікробіоти деяких МВ, входять мікроорганізми, які сприяють очищенню від умовно-патогенних бактерій, що підтверджується встановленим зв'язком змін мікробіологічного та хімічного складу, антимікробних властивостей і фізіологічної активності МВ при її зберіганні поза свердловину [8].

Вищенаведене доводить необхідність проведення експериментальних досліджень на піддослідних тваринах з метою визначення впливу продуктів метаболізму деяких

представників аутохтонної мікробіоти на хімічний склад та біологічну активність МВ. Це дозволить прогнозування лікувальних властивостей фасованих МВ при тривалому зберіганні.

Мета дослідження полягала у проведенні порівняльного аналізу висюваності аутохтонної мікробіоти з природної негазованої та газованої хлоридної натрієвої МВ зі свердловини № 3510-Д за різними строками зберігання та здатності досліджуваних вод впливати на функціональний стан ЦНС та детоксикуючу функцію печінки експериментальних тварин при їх внутрішньому застосуванні.

### Матеріали та методи

Експериментальні дослідження проведено на 50 білих щурах самцях лінії Вістар аутбредного розведення з масою тіла 150 – 200 г. Під час всього періоду дослідження тварини знаходились на постійному стандартному харчовому та питному режимі в умовах утримання їх у віварії ДУ «Укр.НДІ МРТАК МОЗ України». Дослідження над тваринами проводились згідно існуючих правових документів [9, 10].

Досліджувані МВ вводили тваринам у стравохід м'яким зондом з металевою оливкою, курсом у 7 діб, один раз на добу, в дозі 1 % від маси тіла, у вечірній час (близько 17.00), враховуючи особливості добового біоритму щурів. Щурів було поділено на 7 груп: перша (20) –інтактні тварини (контрольна); друга, третя та четверта група (по 5 у кожній) – здорові тварини, які отримували природну негазовану МВ через місяць, три та шість місяців; п'ята, шоста та сьома (по 5 у кожній) – здорові тварини, які отримували фасовану газовану МВ через місяць, три місяця та шість місяців, відповідно.

Нейрогенний та гепатотропний ефект досліджуваних МВ виявляли методом проведення «метаболічної проби» за схемою Сперанського з використанням барбітуратів (тіопенталу натрію). Враховувався час засинання тварин після введення їм барбітуратів, що є інтегральним тестом впливу МВ на функціональний стан ЦНС. Прискорений час засинання тварин, у порівнянні з попередньо знятим вихідним фоном цих же білих щурів, розглядається, як прояв седативного впливу МВ на ЦНС, а збільшений період засинання – як збуджуючий ефект МВ. Тривалість медикаментозного сну обумовлена роботою печінки, її антиоксидантною здатністю щодо зниження концентрації тіопенталу натрію у крові, від чого тварини прокидаються. Функціонування монооксигеназної системи біотрансформації в печінці забезпечує детоксикацію токсинів чи метаболізування ксенобіотиків (барбітуратів) з подальшою екскрецією їх печінкою.

Показниками негативного впливу досліджуваного засобу на функцію печінки є збільшення часу дії рідини внаслідок гальмування її інактивації. Збільшення тривалості сну свідчить про зниження детоксикуючої функції печінки, а скорочення – про підвищення стимулювання її функціонального стану.

Дослідження проводились за методиками, викладеними у Посібнику [11]. Статистичну обробку отриманих даних у серіях дослідів проводили методом непрямих різниць, при цьому, достовірними зрушеннями вважались ті, що знаходились в межах вірогідності за таблицями Ст'юдента  $< 0,05$  [12]. Кількісне представництво еколого-фізіологічних груп мікроорганізмів у пробах виявляли методом посіву на щільні та рідкі поживні середовища [13, 14].

### Результати та їх обговорення

В табл. наведено дані щодо тестування функціонального стану ЦНС та функціонального стану печінки за пробою Сперанського.

Таблиця

Вплив природної нативної та газованої МВ свр. № 3510-Д на функціональний стан ЦНС та детоксикуючу функцію печінки щурів

| Показники                           | Нативна МВ. Термін зберігання, міс.  |      |      |
|-------------------------------------|--------------------------------------|------|------|
|                                     | I                                    | III  | VI   |
| Час засинання, хв                   | 95                                   | 93   | 98   |
| Тривалість медикаментозного сну, хв | 96                                   | 180* | 200* |
| Показники                           | Газована МВ. Термін зберігання, міс. |      |      |
|                                     | I                                    | III  | VI   |
| Час засинання, хв                   | 88                                   | 111  | 95   |
| Тривалість медикаментозного сну, хв | 98                                   | 140* | 155* |

Примітки: дані дослідних груп віднесено у відсотках до даних контрольної групи щурів, які прийнято за 100 %; \* – достовірні зміни показників.

І негазована, і газована МВ не впливають на досліджувані показники функціонального стану ЦНС протягом всього терміну дослідів, на що вказує відсутність достовірності показників часу засинання по відношенню до даних контролю.

Тривалість медикаментозного сну у піддослідних щурів, що вживали, як газовану, так і нативну МВ після одного місяця зберігання не відрізнялася від даних групи контролю. Але, після трьох місяців зберігання цей показник достовірно підвищувався при вживанні нативної МВ на 80 %, а газованої – на 40 %, що свідчить про зниження детоксикаційної функції печінки. Слід підкреслити, що введення тваринам нативної МВ викликає більш значне зниження детоксикуючої функції печінки. При проведенні досліджень на шостий місяць встановлено, що тривалість медикаментозного сну піддослідних тварин не відрізняється від даних контролю, тобто, у досліджуваних МВ зникають умови, які сприяли незадовільному впливу на антитоксичну здатність печінки. З досвіду наших попере-

дніх досліджень щодо впливу МВ України різних типів на детоксикуючу активність печінки встановлено подібний ефект: саме після трьох місяців зберігання антитоксична функція печінки знижувалась.

Мікробіологічними дослідженнями встановлено, що у пробах МВ свр. № 3510-Д присутні різні еколого-фізіологічні групи мікроорганізмів: маслянокислі, тіонові (*Thiobacillus thioparus*), гнилісні анаероби, сапрофітні бактерії – продуценти каталази, мікроорганізми, які засвоюють органічний азот, олігокарботрофні бактерії. Домінуючою групою мікроорганізмів, яка володіє значним катаболічним потенціалом були аеробні амоніфікувальні бактерії, серед них було визначено сапрофітні флуоресціюючі псевдомонади. Останні, як відомо, здатні продукувати біологічно активні метаболіти [15].

Можливо, завдяки різноманітним екзоферментам, вони засвоюють різні речовини МВ, приймаючи участь у формуванні біологічної активності останніх. Цей висновок базується на порівнянні змін у метаболічній активності амоніфікувальних бактерій та фізіологічних проявах МВ у процесі зберігання. Було встановлено, що зниження інтенсивності розвитку бактерій з 5 балів (місяць зберігання) до 3 балів (три місяця зберігання) сприяло зниженню біологічного ефекту у МВ. Навпаки, із зростанням метаболічної активності амоніфікаторів до початкового рівня 5 балів, біологічна активність МВ відновлювалася.

### Висновки

1. Встановлено наявність аутохтонної мікробіоти різних еколого-фізіологічних груп у природній негазованій та газованій хлоридній натрієвій мінеральній воді свердловини № 3510-Д за різними строками зберігання.

Варіювання інтенсивності розвитку мікроорганізмів упродовж зберігання сприяє нестабільності біологічної активності МВ.

2. Тривалість медикаментозного сну у піддослідних щурів, що вживали, як газовану, так і негазовану МВ, достовірно підвищується після трьох місяців зберігання на 100 та 60 % відповідно, що свідчить про зниження детоксикуючої функції печінки. При проведенні досліджень на перший та шостий місяць (чи на I-й та III-й точці) тривалість медикаментозного сну не змінюється.

3. У пробах мінеральних вод домінуючою групою мікроорганізмів, яка володіє значним катаболічним потенціалом були аеробні амоніфікувальні бактерії, серед яких визначено сапрофітні флуоресціюючі псевдомонади.

4. Встановлено, що зниження інтенсивності розвитку амоніфікувальних бактерій з 5 балів (місяць зберігання), до 3 балів (три місяця зберігання) співпадало зі зниженням антитоксичної здатності печінки. Із зростанням метаболічної активності амоніфікаторів до початкового рівня 5 балів, вплив МВ на детоксикуючу функцію печінки не відрізнявся від даних контрольної групи.

### Перспективи подальших досліджень

Потребує з'ясування взаємозв'язок аутохтонної мікробіоти та біологічної активності природних МВ різних типів. Для встановлення наявності або відсутності впливу на деякі системи організму піддослідних тварин продуктів

метаболізму аутохтонної мікробіоти МВ у подальших дослідженнях планується проведення примусового пригнічення розвитку аутохтонної мікробіоти у МВ.

### Література

1. Нікіпелова О. М. Сучасні вимоги до забезпечення якості фасованих мінеральних вод України / О. М. Нікіпелова, Л. Б. Солодова, А. Ю. Кисилевська // Медична реабілітація, курортологія, фізіотерапія. – 2007. – № 1 (49). – С. 39 – 40.
2. Експериментальні фізіологічні та мікробіологічні дослідження мінеральних вод Закарпаття / О. М. Нікіпелова, Н. О. Алексєєнко, С. Г. Гуца [та ін.] // Вода: гігієна та екологія. – 2013. – № 1. – С. 102 – 109.
3. Микрофлора минеральных природных вод как критерий их гигиенического состояния / С. И. Николенко, О. Н. Хмельевская, Е. М. Никипелова [и др.] // Медична реабілітація, курортологія, фізіотерапія. – 2015. – № 2 (82). – С. 67 – 71.
4. Leclerc H. Microbiological safety of natural mineral water / H. Leclerc, A. Moreau // Microbiol. Rev. – 2002. – Vol. 26. – P. 207 – 222.
5. Бутыллированные воды: типы, состав, нормативы / под ред. Д. Сениор, Н. Деге, пер. с англ. Е. Бровниковой, Т. Заревич. – СПб.: Профессия, 2006. – 424 с.
6. Ніколенко С. І. Стан мікрофлори мінеральних вод при зберіганні у позаекологічних умовах / С. І. Ніколенко, О. М. Хмельевська, А. В. Мокиєнко // Медична реабілітація, курортологія, фізіотерапія. – 2014. – № 2 (78). – С. 62
7. Нікіпелова О. М. Наукове обґрунтування зберігання біологічної активності мінеральної природної лікувально-столової води «Свалява» (сильно газованої, фасованої в ПЕТ- та склопляшки з використанням технології стабілізації аскорбіновою кислотою при її зберіганні) / О. М. Нікіпелова, А. Ю. Кисилевська, С. І. Ніколенко, С. Г. Гуца // Харчова наука і технологія. – 2013. – № 4 (25). – С. 49 – 56.
8. К обоснованию углубленных исследований метаболитов аутохтонной микрофлоры минеральных вод / А. В. Мокиєнко, Е. М. Никипелова, С. И. Николенко [и др.] // Медична реабілітація, курортологія, фізіотерапія. – 2013. – № 3. – С. 48 – 51.
9. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета от 22 сентября 2010 г. по защите животных, используемых для научных целей – Official Journal L 276, 20.10.2010. – P. 0033 – 0079.
10. Наказ Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 № 249. – Офіційний вісник України від 06.04.2012. – № 24, С. 82, стаття 942, код акту 60909/2012.
11. Алексєєнко Н. О. Посібник з методів досліджень природних та преформованих засобів: мінеральні природні лікувально-столові та лікувальні води; пелоїди, розсоли, глини, воски та препарати на їхній основі. / Н. О. Алексєєнко, О. С. Павлова, Б. А. Насібулін, А. С. Ручкина. – Ч. 3. Експериментальні та доклінічні дослідження. – К.: СОЦІО, 2002. – 120 с.
12. Гланц С. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
13. Продукты пищевые. Метод определения дрожжей и плесневых грибов: ГОСТ 10444.12 – 88. – [Чинний від 1988-09-21]. – М.: Госком. СССР по стандартам, 1988. – 10 с. (Госстандарт СССР).
14. Ніколенко С.І. Посібник з методів контролю природних мінеральних вод, штучно-мінералізованих вод, напоїв на їх основі та преформованих засобів. Ч.2. Мікробіологічні дослідження / С. І. Ніколенко, С. М. Глуховська, О.М. Хмельевська. – К.: КІМ, 2011. – 51 с.

15. Павлова О.Н. Бактерии рода Pseudomonas в микробном сообществе озера Байкал: дис. ... кандидата биол. наук: 03.00.16 / Ольга Николаевна Павлова. – Иркутск, 2004. – 146 с.

УДК 616.327.076.9:579

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЩОДО БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПРИРОДНОЇ МІНЕРАЛЬНОЇ ХЛОРИДНОЇ НАТРІЄВОЇ ВОДИ ЗА РІЗНИМИ СТРОКАМИ ЗБЕРІГАННЯ

**О. М. Нікіпелова, С. Г. Гуца,  
С. І. Ніколенко, А. Ю. Кисилевська,  
А. В. Мокиєнко**

*Державна установа «Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології МОЗ України», м. Одеса*

Відомо, що характер впливу продуктів метаболізму аутохтонної мікробіоти на біологічну активність мінеральних вод залишається не до кінця вивченим. Тому метою дослідження було проведення порівняльного аналізу висіюваності аутохтонної мікробіоти з природної негазованої та газованої хлоридної натрієвої МВ зі свердловини № 3510-Д за різними строками зберігання (через 1, 3, та 6 місяців) та здатності досліджуваних вод впливати на функціональний стан ЦНС та детоксикуючу функцію печінки експериментальних тварин при їх внутрішньому застосуванні.

Експериментальні дослідження проведено на 50 білих щурах самцях лінії Вістар аутбредного розведення з масою тіла 150 – 200 г. Нейрогенний та гепатотропний ефект досліджуваних МВ виявляли методом проведення «метаболічної проби» за схемою Сперанського з використанням барбітуратів (тіопенталу натрію). Кількісне представництво еколого-фізіологічних груп мікроорганізмів у пробах вод виявляли методом посіву на щільні та рідкі поживні середовища.

У пробах мінеральних вод домінуючою групою мікроорганізмів із значним катаболічним потенціалом були аеробні амоніфікуючі бактерії, серед яких визначено сапрофітні флуоресціюючі псевдомонади.

Тривалість медикаментозного сну у піддослідних щурів, що вживали, як газовану, так і нативну МВ після одного місяця зберігання не відрізнялася від даних групи контролю. Але, після 3х місяців зберігання цей показник достовірно підвищувався при вживанні нативної МВ на 80 %, а газованої – на 40 %, що свідчить про зниження детоксикуючої функції печінки. Це співпадало зі зниження інтенсивності розвитку амоніфікуючих бактерій Після 6 місяців зберігання тривалість медикаментозного сну тварин не відрізняється від даних контролю, тобто, у досліджуваних МВ зникають умови, які сприяли незадовільному впливу на антитоксичну здатність печінки. У цей же термін досліду зростала і метаболічна активність амоніфікаторів до початкового рівня. Тобто, варіювання

інтенсивності розвитку мікроорганізмів впродовж зберігання сприяє нестабільності біологічної активності МВ.

**Ключові слова:** мінеральні води, експериментальні дослідження, функціональний стан центральної нервової системи, детоксикаційна активність печінки, аутохтонна мікробіота.

УДК 616.327.076.9:579

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРИРОДНОЙ МИНЕРАЛЬНОЙ ХЛОРИДНОЙ НАТРИЕВОЙ ВОДЫ В РАЗНЫЕ СРОКИ ХРАНЕНИЯ

**Е. М. Никипелова, С. Г. Гуца,  
С. И. Николенко, А. Ю. Кисилевская,  
А. В. Мокиенко**

*ГУ «Украинский научно-исследовательский институт медицинской реабилитации и курортологии МЗ Украины», г. Одесса*

Известно, что характер влияния продуктов метаболизма аутохтонной микробиоты на биологическую активность минеральных вод (МВ) остается до конца не изученным. В связи с этим, целью исследования являлось проведение сравнительного анализа высеваемости аутохтонной микробиоты из природной негазированной и газированной хлоридной натриевой МВ из скважины № 3510-Д в разные сроки хранения и способности исследуемых вод влиять на функциональное состояние ЦНС и детоксикационную функцию печенки экспериментальных животных при их внутреннем применении.

Экспериментальные исследования выполнены на 50 белых крысах самцах линии Вистар аутбредного разведения с массой тела 150–200 г. Количественное представительство эколого-физиологических групп микроорганизмов в пробах вод определяли методом посева на агаризованные и жидкие питательные среды.

В пробах минеральных вод доминирующей группой микроорганизмов, обладающей значительным катаболическим потенциалом, были аэробные аммонифицирующие бактерии, среди которых выявлены сапрофитные флуоресцирующие псевдомонады.

Установлено, что снижение интенсивности развития аммонифицирующих бактерий совпадало со снижением антитоксичной функции печени. И наоборот, по мере возрастания метаболической активности аммонификаторов до первоначального уровня, негативное влияние МВ на детоксикационную функцию печени исчезало и не отличалось от данных контрольной группы.

**Ключевые слова:** минеральные воды, экспериментальные исследования, функциональное состояние центральной нервной системы, детоксикационная активность печени, аутохтонная микробиота.

## EXPERIMENTAL STUDY OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF NATURAL MINERAL CHLORIDE SODIUM WATERS AT DIFFERENT TIMES OF STORAGE

**E. M. Nikipelova, S.G. Gustcha,  
S.I. Nikolenko, A. Yu. Kisilevskiy,  
A.V. Mokienko**

*SE "Ukrainian Research Institute for Medical Rehabilitation and Balneology of the Ministry of Health Care of Ukraine", Odessa*

The nature of the autochthonous microbiota metabolic products influence on biological activity of mineral waters (MW) is not entirely understood. The objective: to conduct a comparative analysis of inoculation of autochthonous microbiota of natural non-carbonated and carbonated chloride sodium MW from the well № 3510-D in different periods of storage and to learn the ability of the waters under analysis to affect the functional state of the central nervous system and hepatic detoxification function of experimental animals in the MW internal application.

Experimental studies were carried out on 50 white male rats of Wistar outbred breeding, weighing 150 - 200 g. The quantity of ecological and physiological groups of microorganisms in water samples was determined by plating on solid and liquid nutrient media.

The MW samples aerobic ammonifiers, among which saprophytic fluorescent *Pseudomonas* were the dominant group of microorganisms with considerable catabolic potential.

It has been revealed that the reduction of ammonifiers development coincided with a decrease of hepatic antitoxic function in experimental animals. Conversely, while metabolic activity of ammonifiers increased to its original level, negative impact of MW on hepatic detoxification function disappeared and did not differ from the control group data.

**Keywords:** mineral water, experiment, functional state of the central nervous system, hepatic detoxification activity, autochthonous microbiota.

Впервые поступила в редакцию 22.11.2015 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования.