

УДК 615.327.076:579

КАРБОНОВІ КИСЛОТИ ЯК ВТОРИННІ МЕТАБОЛІТИ АУТОХТОННОЇ МІКРОБІОТИ МІНЕРАЛЬНИХ ВОД

А.В. Мокієнко, О.М. Нікіпелова, С.І. Ніколенко, А.Ю. Кисилевська, *К.К. Цимбалюк
Державна установа «Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології МОЗ України», м. Одеса; *ТОВ «Інспекторат Україна», м. Одеса

Вступ

Як відомо, карбонові (жирні) кислоти (ЖК) можуть бути насиченими і ненасиченими, замінними і незамінними. В групу незамінних входять лінолеві ЖК, які не синтезуються в організмі людини (омега 3 і 6). Абсолютно незамінними є ліолева та ліоленова кислоти.

До ненасичених жирних кислот відносяться арахідонова, бегенова, капронова, капрілова, капрінова, лаурінова, лігноцерінова, мірістінова, пальмітинова, стеаринова.

Мононенасичені ЖК – це ацетерукова, олеїнова, пальмітолеїнова, ейкозенова, ерукова; поліненасичені – арахідонова, ліолева, ліоленова α і ліоленова γ .

Жирні кислот мають різноманітні біологічні ефекти. Лаурінова кислота негативно діє на різноманітні патогенні мікроорганізми, бактерії, дріжджі, гриби і віруси (корі, герпесу, симплексного вірусу HIV-1, грипу тощо). Мірістінова кислота використовується організмом для стабілізації різних протеїнів, включаючи імуноглобуліни. Пальмітинова кислота сприяє активізації синтезу власних колагену, еластину, глікозаміногліканів і гіалуронової кислоти. Капрілова кислота проявляє регулюючу дію на ріст дріжджових грибків, пригнічує ріст бактерій, використовується при лікуванні деяких бактеріальних інфекцій, збудниками яких є *Staphylococcus aureus* і різні види *Streptococcus*. Стеаринова кислота, як одна з основних жирних кислот тканин людини, так само як капрілова, олеїнова та мірістінова, сприяє відновленню захисних властивостей шкіри. Олеїнова кислота активізує ліпідний обмін, сповільнює перекісне окиснення ліпідів. Ліоленова α і ліоленова γ поліненасичені ЖК здатні підвищувати рівень простагландину E в організмі, мають протизапальні властивості. Гамма-ліоленова кислота, що утворюється з гамма-ліолевої кислоти, має проти-запальну дію.

Попередній аналіз даних літератури щодо біологічних ефектів карбонових кислот як продуктів метаболізму мікроорганізмів різних груп показав їх значимість як проміжних продуктів синтезу антибіотикоподібних сполук [1]. Це стосується, зокрема, здатності окремих штамів *P. aeruginosa* продукувати так звані бактеріоцини, які характеризуються високими показниками кілерної активності (26 млн ЕА/см³), і, при цьому, здатні пригнічувати ріст більш ніж 75 % культур того ж виду бактерій [2, 3]. На думку авторів [4-8], бактеріоцини можна розглядати як ефективний засіб впливу на планктонну і біоплівкову фор-

ми *P. aeruginosa*, що дозволяє регулювати чисельність мікроорганізмів у бактеріальних популяціях незалежно від форми їх існування.

Актуальність даного дослідження безсумнівна, оскільки вивчення вмісту карбонових кислот у співвідношенні із рівнями аутохтонної мікробіоти та загального органічного вуглецю в різних за хімічним складом мінеральних водах України останнім часом не проводились.

Таким чином, мета роботи полягала у визначенні карбонових кислот у деяких природних мінеральних водах.

Матеріали та методи досліджень

Карбонові кислоти визначали за наступною методикою [9, 10].

У роботі використовували відповідні прилади і допоміжне устаткування: хромато-мас-спектрометр Agilent 7890A/5975C, роторний випарник Heliodolph, лазерні ультразвукові Bandelin, розчинники – трет-бутил метиловий ефір (МТБЕ), дихлорметан, метильний розчин триметилсульфонію гідроксиду виробництва фірми Sigma-Aldrich, кваліфікації for Residue Analysis. Для градування хромато-мас-спектрометру використовували стандартну суміш, яка містила 37 жирних кислот виробництва фірми Supelco (кат. 47885-u Supelco) з концентрацією кожного компонента 10 мг/см³, розчинених у дихлорметані, з якої були виготовлені калібровані суміші з концентраціями кожного компонента 0,01; 0,1; 1,0; 10,0 мг/см³. Інтервал концентрацій жирних кислот становив від 0,01 до 500 мг/дм³.

Проби води відбирали в герметичну скляну тару, попередньо очищену розчином соляної кислоти. Проби зберігалися при 4 °С до аналізу.

Перед екстракцією в пробі води об'ємом 2 дм³ доводили рН за допомогою соляної кислоти до 1. Після встановлення рН пробу води екстрагували в ділільній лійці хлористим метилом. Екстракцію проводили, тричі використовуючи по 30 см³ хлористого метилу. Об'єднані екстракти упарювали досуха на роторному випарнику при температурі 25 °С. До сухого залишку додавали МТБЕ і триметилсульфонію гідроксид, перемішували на ультразвуковій лазні, після чого аналізували на хромато-мас-спектрометрі.

Хромато-мас-спектрометр працював у режимі іонізації – ЕУ (електронний удар 70 ЕВ), дані збирали у режимі селективної реєстрації іонів, для кожної сполуки використовували по 3 іони, один іон для обрахування і два характеристичні.

Результати досліджень та їх обговорення

Результати досліджень нативних (із свердловини) мінеральних вод з оцінки зв'язку між мікробіологічними (псевдомонади) і хімічними (вміст загального органічного вуглецю /ЗОВ/, концентрації карбонових кислот) показниками показують наступне (табл.).

Співставлення цих показників дозволяють із певним ступенем впевненості підтвердити дані літератури [1] про те, що псевдомонади є продуцентами цих вторинних метаболітів. Аналізуючи результати досліджень зразків 1-3

можна судити про таку залежність для зразка 2 і 3, а не для зразка 1, оскільки перевищення суми карбонових кислот в 1,5 рази не може пояснюватись збільшенням числа псевдомонад на один порядок [1]. Однак, аналіз даних для зразків 4 та 5 свідчить, що певна закономірність існує: при зниженні числа псевдомонад на порядок (від 10^8 до 10^7 КУО/дм³) у зразку 4 дещо зменшується концентрація карбонових кислот та вміст загального органічного вуглецю у порівнянні із зразком 5 (6,28 та 6,994; 3,8 та 4,1 мг/дм³ відповідно). Особливо це наглядно для

Таблиця

Співвідношення вмісту ЗОВ, числа флуоресціюючих псевдомонад і концентрації карбонових кислот у деяких мінеральних водах

Зразок	Вміст ЗОВ, мг/дм ³	Число флуоресціюючих псевдомонад, КУО/см ³	Концентрація карбонових кислот, мг/дм ³	
1	12,3	10^9	Пальмітінова Стеаринова Олеїнова Лінолева Мірістінова Сума	1,95 1,05 8,9 1,35 0,45 13,7
2	0,9	10^8	Пальмітінова Стеаринова Олеїнова Лінолева Сума	1,5 0,5 3,2 3,7 8,9
3	4,85	10^8	Мірістінова Пальмітінова Стеаринова Олеїнова Лінолева Ліноленова Арахідонова 11-ейкозенова Бегенова Лігноцерінова Сума	0,13 0,55 0,12 5,1 1,45 0,62 0,11 0,28 0,09 0,05 8,5
4	3,8	Зниження від 10^8 до 10^7 КУО/см ³ впродовж місяця	пеларгонова капрілова лаурілова мірістінова пальмітінова олеїнова Сума	0,25 0,8 0,9 0,33 1,2 2,8 6,28
5	4,1	На одному рівні 10^8 КУО/см ³ впродовж місяця	пеларгонова капрілова лаурілова мірістінова пальмітінова стеаринова олеїнова лінолева Сума	0,05 1,7 0,01 0,31 0,8 0,011 4,1 0,013 6,994
6		10^1	Пальмітінова Стеаринова Мірістінова Сума	0,063 0,009 0,027 0,099

Примітки: 1 - мінеральна вода з підвищеним вмістом органічних речовин сврд. № 1393Д с. Сатанів Городокського району Хмельницької обл.; 2 - мінеральна вода с. Хижинці Лисянського району Черкаської області; 3 - мінеральна вода с. Знаменівка Новомосковського району Дніпропетровської області; 4 - мінеральна борна гідрокарбонатна натрієва вода; 5 - мінеральна гідрокарбонатна хлоридна натрієва вода; 6 - мінеральна маломінералізована хлоридна натрієва вода свр. № 3510-Д м. Миргород Полтавської обл.

зразків 1 та 6 (рис. 1, 2): є пряма залежність для всіх трьох показників.

У роботі [11] досліджено вплив мікрофлори мінеральної води «Нафтуса» на деякі умовно-патогенні бактерії, виділені у хворих із захворюваннями нирок і сечовивідних шляхів. Серед 326 виділених штамів 112 пригнічували ріст *Staphylococcus pyogenes*, 43 — *Escherichia coli*, 39 — *Candida albicans*, 9 — *Pseudomonas aeruginosa*. Автор приходить до висновку, що наявність мікроорганізмів, їх кількісний і видовий склад безсумнівно відіграють певну роль у формуванні біологічно активного лікувального компоненту мінеральної води «Нафтуса», що підтверджує встановлений зв'язок змін мікробіологічного, хімічного складу, антимікробних властивостей і фізіологічної активності води при її зберіганні.

Обговорюючи результати проведених досліджень, автор дисертаційної роботи, присвяченої механізмам

фізіологічної дії лікувальної води «Нафтуса» і її окремих компонентів [12], відзначає, що наявність органічних речовин властива всім без винятку мінеральним водам: їх кількість може досягати 30 мг/дм³. За складом органічні речовин, які виявлено у результаті аналізу більш 300 мінеральних вод, розподілені на 2 типи. До першого віднесено води, які містять бітуми, нафтеніві кислоти і феноли, до другого – гуміни, жирні кислоти і феноли. Цей же автор посилається на відомі експериментальні дані про біологічну активність карбонових кислот жирного ряду латвійських сульфідних вод, інгібуючий вплив олеїнової, лінолевої і ліноленової кислот на АТФ - залежне поглинання іонів кальцію фрагментами ендоплазматичного ретикула м'язів коропа і спонтанні скорочення воротної вени щурів.

Надзвичайно важливим аспектом взаємозв'язку хімічного і мікробіологічного складу мінеральних вод є

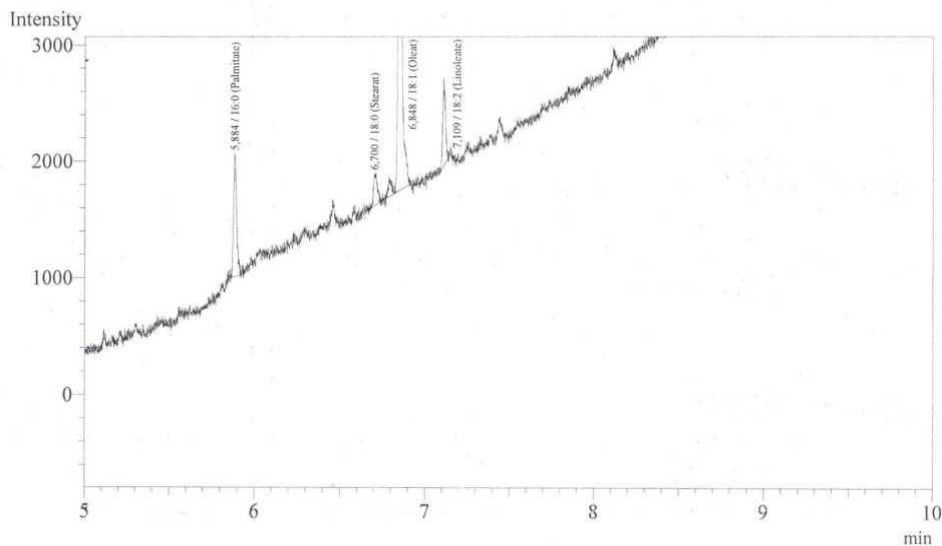


Рис. 1. Хроматограма карбонових кислот у мінеральній воді з підвищеним вмістом органічних речовин сврд. № 1393Д с. Сатанів Городокського району Хмельницької обл. (концентрації, мг/дм³): пальмітінова - 1,95; стеаринова - 1,05; олеїнова - 8,9; лінолева - 1,35; мірістінова 0,45; сума - 13,7.

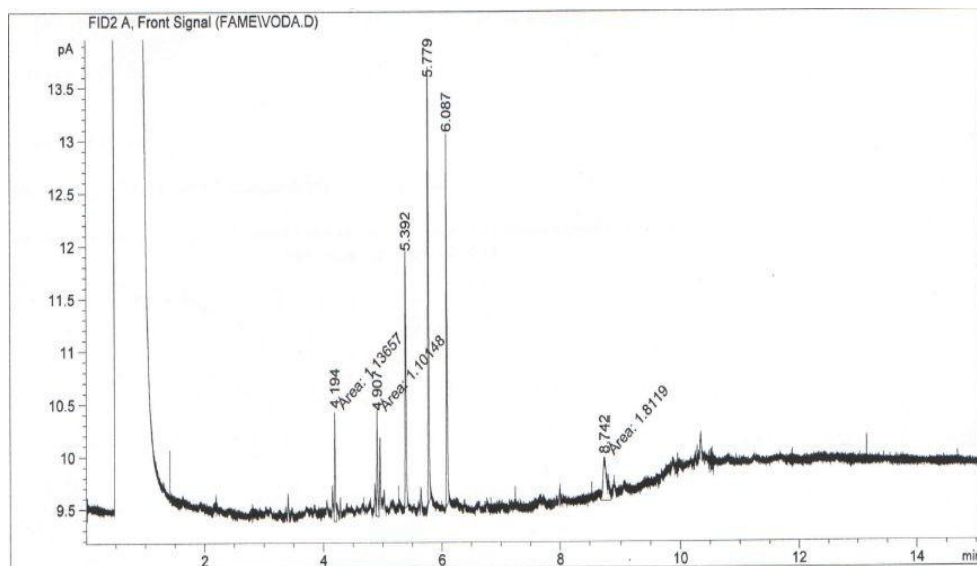


Рис. 2. Хроматограма карбонових кислот у мінеральній маломінералізованій хлоридній натрієвій воді свр. № 3510-Д м. Миргород Полтавської обл. (концентрації, мг/дм³): мірістінова - 0,027; пальмітінова - 0,063; стеаринова - 0,009; сума - 0,099.

концентрація загального органічного вуглецю (ООУ). Так, у попередніх дослідженнях [13] показано, що зниження числа клітин сапрофітної мікрофлори нативної мінеральної води свердловини № 1650 Збручанського родовища після місячного зберігання відбувалося на фоні зниження кількості вуглецю нелетучих органічних речовин і концентрації карбонових кислот.

Отримані дані також кореспондуються з результатами досліджень по ідентифікації біологічно активних органічних сполук у лікувальних мінеральних водах типу «Нафтуса» Українських Карпат і Поділля [14], автори яких також використовували високочутливий хромато-мас-спектрометр LKB-2091. Серед аліфатичних жирних кислот виділялися висотою піків (а, відповідно, і концентрацією) стеаринова і пальмітінова, які визначені в органічній речовині всіх родовищ вод. У зразках різних родовищ знайдені кислоти із числом вуглецевих атомів C_{11} - C_{12} : мурашина, оцтова, пропіонова, масляна, валеріанова, капронова, енантова, капрілова; встановлено високі піки пеларгонової, капринової, ундеканової, лауринової. Кислоти варіювалися в мінеральних водах у різних концентраціях. В окремих пробах виявлено мірістінову, гейкозанову і трикозанову кислоти (C_{14} ; C_{21} ; C_{23}).

Висновки

1. Аутохтонна мікробіота природних мінеральних вод, головним чином бактерії роду *Pseudomonas* і споріднених родів, здатна продукувати вторинні метаболіти, які характеризуються бактерицидною або інгібуючою активністю щодо конкуруючих бактерій - чужорідної алохтонної мікрофлори.

2. Карбонові кислоти слід вважати значимими вторинними метаболітами аутохтонної мікробіоти природних мінеральних вод, оскільки ці сполуки не тільки посідають важливе місце в синтезі інгібуючих або бактерицидних речовин, але й мають самостійну біоцидну та протизапальну дію.

3. Флуоресціюючі псевдомонади, як представники аутохтонної мікробіоти природних мінеральних вод, є значимими продуцентами карбонових кислот, визначення яких слід розглядати як адекватний метод контролю вторинних метаболітів.

4. Аналіз результатів попередніх робіт і даних власних досліджень свідчить про необхідність поглибленого моніторингу якості мінеральних вод на основі комплексної оцінки взаємозв'язку хімічних і мікробіологічних показників і обґрунтуванні ролі вторинних метаболітів аутохтонної мікробіоти у формуванні біологічної активності і бальнеологічної цінності мінеральних вод.

Література

1. К обоснованию углубленных исследований метаболитов аутохтонной микрофлоры минеральных вод / А.В. Мокиенко, Е.М. Никипелова, С.И. Николенко [и др.] // Медицинская реабилитация, курортология, физиотерапия. — 2013. — №3. — С. 48 — 51.

2. Bacteriocin as weapons in the marine animal-associated bacteria warfare: inventory and potential applications as an aquaculture probiotic / F. Desriac, D. Defer, N. Bourgougnon [et al.] // Mar. Drugs. — 2010. — 8, N 4. — P. 1153-1177.

3. Видасов В.В. Особенности получения окремих типів бактериоцинів *Pseudomonas aeruginosa* / В.В. Видасов, О.Б. Балко, Л.В. Авдеева // Naukowa przestrzeń Europy – 2013: Materiały IX międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji (07-15 kwietnia 2013). - Vol. 30. Nauk biologicznych. Chemia i chemiczne technologie. Geografia i geologia. – Przemysl: Nauka i studia, 2013. – С. 23-25.

4. Балко А.Б. Характеристика, свойства, перспектива применения бактериоцинов / А.Б. Балко // Микробиол. журн. - 2012. - 74, № 6. – С. 54 – 61.

5. Балко А.Б. Антисинегнойная активность бактериоциноподобных веществ бактерий рода *Pseudomonas* / А.Б. Балко, Л.В. Авдеева // Биология– наука XXI века: Материалы 15-ой Международной Пушинской школы-конференции молодых ученых (18 – 22 апреля 2011 г.). – Пушино, Россия, 2011. – С. 193 – 194.

6. Балко О.И. Влияние наночастиц серебра на *Pseudomonas aeruginosa* в планктонной и биопленочной формах / О.И. Балко, А.Б. Балко, Л.В. Авдеева // Стратегия і тактика боротьби з інфекційними захворюваннями: Матеріали науково-практичної конференції за міжнародною участю, присвяченої 125-річчю заснування ДУ «ІМІ НАМНУ» (17-18 жовтня 2012 р.). – Харків, 2012. – С. 85-86.

7. Влияние бактериоцинов на планктонную и биопленочную формы *Pseudomonas aeruginosa* / О.И. Балко, А.Б. Балко, Л.В. Авдеева [и др.] // Тези доповідей XIII з'їзду Товариства мікробіологів ім. С.М. Виноградського, Ялта, 01-06 жовтня 2013 р., "Патент", 2013. – С. 312.

8. Balko O.B. Pyocins as effective means against *Pseudomonas aeruginosa* / O.B. Balko, O.I. Balko, L.V. Avdeeva // Пути развития биотехнологии в Туркменистане: Материалы международной научной конференции (20-21 ноября 2013 г.). - г. Туркменбаши, Туркменистан, 2013. – С. 301-303.

9. Fatoki O. S. Determination of free fatty-acid content of polluted and unpolluted waters / O. S. Fatoki, F. Vernon // Wat. Res. – 1989. – V. 23, N 1. – P. 123 – 125.

10. Casado A. G. Determination of fatty acids (C_8 - C_{22}) in urban wastewater by GC-MS / A. G. Casado, E. J. A.L. Hernandez, J. L. Vilchez // Wat. Res. – 1998. – V. 32, N 10. – P. 3168 – 3172.

11. Конотоп Г.И. Изучение микрофлоры минеральной воды «Нафтуса» в процессе эксплуатации трускавецкого месторождения : автореф. дис. к. б. н.: 03.00.07 / Г. И. Конотоп; Ордена Трудового Красного Знамени Институт микробиологии и вирусологии им. ак. Д.К. Заболотного. – Киев, 1983. – 22 с.

12. Івасівка С.В. Механізм фізіологічної дії лікувальної води Нафтуса і її окремих компонентів : дис. д. м. н.: 14.00.34 / С.В. Івасівка; Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. – Київ, 1994. – 190 с.

13. Николенко С.И. Микрофлора слабоминерализованных вод типа «Нафтуса» и ее влияние на их бальнеологические свойства: дис. ... к. б. н.: 03.00.07, 145.00.34 / С.И. Николенко; Одесский научно-исследовательский институт курортологии. – Одесса, 1988. – 180 с.

14. Лечебные минеральные воды типа «Нафтуса» Украинских Карпат и Подолья / Гл. редактор д. геол.-мин. н., профессор, академик НАН Украины В.М. Шестопалов / В.М. Шестопалов, Н.Л. Моисеева, А.П. Ищенко [и др.] – Черновцы-Букрек, 2013. – 600 с.

УДК 615.327.076:579

КАРБОНОВІ КИСЛОТИ ЯК ВТОРИННІ МЕТАБОЛІТИ АУТОХТОННОЇ МІКРОБІОТИ МІНЕРАЛЬНИХ ВОД

**А.В. Мокієнко, О.М. Нікіпелова,
С.І. Ніколенко, А.Ю. Кисилевська,
*К.К. Цимбалюк**

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

Мета роботи полягала у визначенні карбонічних кислот у деяких природних мінеральних водах. Встановлено, що флуоресцюючі псевдомонади, як представники аутохтонної мікробіоти природних мінеральних вод, є значими продуцентами карбонічних кислот. Обґрунтовано значимість карбонічних кислот як вторинних метаболітів та адекватність методу їх контролю. Показано важливість поглибленого моніторингу якості мінеральних вод на основі комплексної оцінки взаємозв'язку хімічних і мікробіологічних показників і роль вторинних метаболітів аутохтонної мікрофлори у формуванні біологічної активності і бальнеологічної цінності мінеральних вод.

Ключові слова: мінеральні води, вторинні метаболіти, карбонічні кислоти.

УДК 615.327.076:579

КАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ КАК ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ АУТОХТОННОЙ МИКРОБИОТЫ МИНЕРАЛЬНЫХ ВОД

**А.В. Мокиенко, Е.М. Никипелова,
С.И. Николенко, А.Ю. Кисилевская,
*К.К. Цимбалюк**

*Государственное учреждение «Украинский научно-исследовательский институт медицинской реабилитации и курортологии МЗ Украины», г. Одесса; *ООО «Инспекторат Украина», г. Одесса*

Цель работы состояла в определении карбонических кислот в некоторых природных минеральных водах. Установлено, что флуоресцирующие псевдомонады, как представители аутохтонной микробиоты природных минеральных вод, являются значимыми продуцентами карбонических кислот. Обоснована значимость карбонических кислот как вторичных метаболитов и адекватность метода их контроля. Показана важность углубленного мониторинга качества минеральных вод на основе комплексной оценки взаимосвязи химических и микробиологических показателей и роль вторичных метаболитов аутохтонной микробиоты в формировании биологической активности и бальнеологической ценности минеральных вод.

Ключевые слова: минеральные воды, вторичные метаболиты, карбонические кислоты.

CARBONIC ACIDS AS SECONDARY METABOLITES OF AUTOCHTHONOUS MICROBIOME OF MINERAL WATERS

**A.V. Mokiienko, Ye. M. Nikipelova,
S.I. Nikolenko, A. Yu. Kisilevskaya,
*K.K. Tsybaluk**

*State Enterprise "Ukrainian Research Institute of Medical Rehabilitation and Health Resort Ukrainian Ministry of health Care", Odessa; *Ltd «Inspektorat Ukrain», Odessa*

The objective – to determine carbonic acids in some natural mineral waters. It has been established that iridescent pseudomonades, as representatives of autochthonous microbiota, are important producer of carbonic acids. The importance of carbonic acids as secondary metabolites and methods of their control has been substantiated. The importance of in-depth monitoring of mineral waters quality on the basis of complex estimation of chemical and microbiological indexes interactions and role of the secondary metabolites of autochthonous microbiota in formation of biological activity and balneological value of mineral waters has been shown.

Key words: mineral water, secondary metabolite, carbonic acid.

Впервые поступила в редакцию 17.03.2015 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования.