



Хлыстов И.А., Карпова Е.П., Бушуева Т.В., Штин Т.Н., Харькова П.К.

Оценка биологических свойств воды поверхностного источника хозяйствственно-питьевого назначения методом биотестирования

ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий»
Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Формируемый природными и антропогенными процессами состав воды питьевых водоисточников может представлять опасность для здоровья из-за отсутствия необходимых сведений о физико-химических, токсических свойствах соединений и несовершенства технологий водоподготовки. Наиболее эффективным решением при оценке безопасности и пригодности воды представляется мониторинг интегральных показателей в сочетании с биотестированием и дальнейшей расшифровкой предикторов биологического ответа. Биотестирование важно при оценке экспозиции, установлении дозоответных зависимостей и токсикокинетических свойств веществ.

Цель работы – оценка качества и безопасности воды по показателям физико-химического состава с применением метода биотестирования на культуре клеток.

Материалы и методы. Проведены исследования физико-химических показателей воды поверхностного питьевого водоисточника и перед подачей в распределительную сеть (весна – осень 2023 г.). Биотестирование воды выполнено на культуре кератиноцитов человека методом МТТ-теста, характеризующего жизнеспособность клеток. С помощью регрессионного анализа выбраны наиболее значимые предикторы клеточного ответа.

Результаты. Обнаружена сезонная вариабельность обобщённых показателей ионного состава воды. Выявлены превышения гигиенических нормативов Al и Fe в водоисточнике, перманганатной окисляемости в питьевой воде. Наименьшее значение уровня жизнеспособности культуры фибробластов обнаружено при воздействии воды из водоисточника весной, тогда как питьевая вода не снижала жизнеспособность клеток в течение трёх сезонов.

Ограничения исследования. Исследование не охватило зимний сезон ввиду недостаточного объёма доступной для биотестирования клеточной культуры.

Заключение. Исследованы физико-химические показатели качества, безопасности воды водоисточника и питьевой воды. С помощью моделирования установлен предиктор биологического ответа – хелатированная форма марганца. Применённый тест-объект оказался нечувствительным к показателям, превышающим ПДК.

Ключевые слова: источники питьевого водоснабжения; цитотоксичность; биологические свойства воды; физико-химический состав; биотестирование; мониторинг

Соблюдение этических стандартов. Исследование не требует представления заключения комитета по биомедицинской этике или иных документов.

Для цитирования: Хлыстов И.А., Карпова Е.П., Бушуева Т.В., Штин Т.Н., Харькова П.К. Оценка биологических свойств воды поверхностного источника хозяйствственно-питьевого назначения методом биотестирования. *Гигиена и санитария*. 2025; 104(6): 805–812. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-6-805-812>
<https://elibRARY.ru/dgekfq>

Для корреспонденции: Хлыстов Иван Андреевич, e-mail: hlistov@ymrc.ru

Участие авторов: Хлыстов И.А. – концепция и дизайн исследования, написание и редактирование текста, сбор данных литературы; Карпова Е.П., Штин Т.Н. – сбор материала и обработка данных; Бушуева Т.В. – концепция и дизайн исследования, сбор данных литературы, редактирование текста; Харькова П.К. – сбор данных литературы, обработка данных. **Все соавторы** – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех её частей.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила: 06.05.2025 / Принята к печати: 26.06.2025 / Опубликована: 31.07.2025

Ivan A. Khlystov, Elizaveta P. Karpova, Tatiana V. Bushueva, Tatiana N. Shtin, Polina K. Kharkova

Evaluation of biological properties of surface water for domestic and drinking purposes by biotesting method

Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. The composition of the water source determined by natural and anthropogenic processes can pose human health risks due to the lack of necessary information on the physicochemical and toxic properties of compounds and imperfection of water treatment technologies. Monitoring of integrated indicators, combined with bioassay and further decoding of biological response predictors, seems to be the most effective solution to water quality and safety evaluation. Bioassay is important for assessing exposure, establishing dose-response relationships and toxicokinetic properties of substances.

The aim was to assess the quality and safety of water based on physicochemical indices and using a cell culture bioassay.

Materials and methods. We tested physicochemical parameters of surface water and treated potable water before being distributed in Spring to Autumn, 2023. The MTT assay was conducted on a human keratinocyte culture describing cell viability. The most significant predictors of cellular response were selected using regression analysis.

Results. We observed seasonal variations in the level of summary indicators and the ionic composition of water. We also revealed excessive concentrations of aluminum and iron in the water source and an elevated permanganate index of treated water. The lowest value of the fibroblast culture viability level was found following exposure to surface water sampled in Spring, while treated water did not reduce cell viability over three seasons.

Limitations. The study did not cover the winter season due to insufficient volume of cell culture available for biotesting.

Conclusions. We established physicochemical quality and safety parameters of source and treated water. Modeling showed that chelated manganese was a predictor of the biological response. The test object used turned out to be insensitive to indicators exceeding the maximum allowable levels in water.

Keywords: drinking water sources; cytotoxicity; biological properties of water; physicochemical composition; bioassay; monitoring

Compliance with ethical standards. The study does not require the submission of a biomedical ethics committee opinion or other documents.

For citation: Khlystov I.A., Karpova E.P., Bushueva T.V., Shtin T.N., Kharkova P.K. Evaluation of biological properties of surface water for domestic and drinking purposes by biotesting method. *Gigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian journal.* 2025; 104(6): 805–812. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-6-805-812> <https://elibrary.ru/dgekfq> (In Russ.)

For correspondence: Ivan A. Khlystov, e-mail: hlistov@ymrc.ru

Contributions: Khlystov I.A. – study conception and design, draft manuscript preparation and editing, bibliography compilation and referencing; Karpova E.P., Shtin T.N. – data collection and analysis; Bushueva T.V. – study conception and design, bibliography compilation and referencing, editing; Kharkova P.K. – bibliography compilation and referencing, data analysis. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study had no sponsorship.

Received: May 6, 2025 / Accepted: June 26, 2025 / Published: July 31, 2025

Введение

Физико-химический состав водоёмов формируется под воздействием гидрологических, биологических, геологических, климатических и антропогенных процессов. Вода представляет собой сложную смесь компонентов, многие из которых ещё до конца не идентифицированы, а токсические свойства не изучены [1]¹. Отсутствие необходимых сведений о физико-химических и токсических свойствах содержащихся в воде соединений и несовершенство технологий водоподготовки создают потенциальную угрозу здоровью населения. В этих условиях особое значение приобретают разработка и использование методов интегральной оценки качества питьевой воды [2]. Санитарно-химический анализ воды в сочетании с биотестированием позволяет дать интегральную токсикологическую характеристику водного объекта [3]. Биотестирование с использованием клеток человека приобретает всё большее распространение благодаря совершенствованию методов культивирования, удобству использования клеток в качестве мишеней и простых моделей в токсикологических исследованиях. Физиологическая значимость таких моделей значительно повышается за счёт измерения биомаркёров и всесторонней оценки клеточных реакций [4].

Кожа – самый большой орган человеческого тела, обладающий способностью впитывать различные лекарственные препараты, но вместе с этим связывать, впитывать различные соединения при нахождении человека в воде [5, 6]. Наряду с ингаляционным и пероральным путями воздействие различных веществ на организм осуществляется и через кожу [7]. В большинстве случаев риски для здоровья оцениваются при пероральном воздействии компонентов в составе питьевой воды, в то время как исследования других путей экспозиции при иных вариантах водопользования практически не ведутся.

Из-за недостатка данных становится невозможным расчёт абсорбированной дозы за одно событие на экспонируемую площадь кожи [8]. В условиях глобального загрязнения отсутствие точных данных о составе экспонируемой среды, путях воздействия, а также применение несовершенных до-зотивных моделей приводят к неправильной оценке экспозиции на организм и несвоевременному принятию мер по защите здоровья человека [9].

Цель работы – оценка качества и безопасности воды по показателям физико-химического состава с применением метода биотестирования на культуре клеток.

¹ Sampling Guidance for Unknown Contaminants in Drinking Water [Электронный ресурс] U.S. Environmental Protection Agency. Доступно: https://www.epa.gov/sites/default/files/2017-02/documents/sampling_guidance_for_unknown_contaminants_in_drinking_water_02152017_final.pdf Ссылка активна на: 20.10.2024 г.

Материалы и методы

Весной, летом и осенью 2023 г. проводили отбор воды из поверхностного источника хозяйственно-питьевого назначения (р. Чусовая) и перед подачей в распределительную сеть промышленного города Свердловской области. Стадии подготовки питьевой воды на станции: преаммонизация, предварительное хлорирование, коагуляция, флокуляция, окончательное хлорирование. Состав воды оценивали по обобщённым показателям (углерод растворённый общий, неорганический и органический – С_{общ}, С_{неорг}, С_{орг}, перманганатная окисляемость (ПО), сухой остаток, электропроводность, pH), показателям катионно-анионного состава (нитраты, нитриты, сульфаты, полифосфаты, растворённые формы металлов и кремний), а также специфическим показателям (хелатированные формы металлов). Массовые концентрации металлов и токсичных элементов (Al, Ba, V, Cd, Mn, Cu, Mo, As, Ni, Pb, Se, Sr, Sb, Cr, Zn, Fe) в растворённой форме (без минерализации) измерены стандартным методом^{2,3}, в хелатированной форме – согласно справочнику⁴ и в соответствии с Руководством по эксплуатации масс-спектрометра с индуктивно связанный плазмой (7800 ICP-MS; Agilent, США).

Эксперимент по биотестированию образцов воды, отобранных из водоисточника и перед подачей в распределительную сеть, проведён на тест-объекте – культуре кератиноцитов человека (Merck). Кератиноциты – это клетки кожи человека, выполняющие структурную, защитную и иммунные функции, их доля в эпидермисе составляет около 95% [10, 11]. Жизнеспособность клеток оценивали по изменению их дегидрогеназной активности в MTT-тесте. Для этого клетки высевали в 96-луночные планшеты, к полной питательной среде добавляли 20% исследуемой воды и культивировали в стандартных условиях в течение 24 ч. Эксперимент проводили набором MTT Cell Assay Kit (HiMedia, Индия) в соответствии с инструкцией производителя. Результаты рассчитывали по формуле (1):

$$\text{Дегидрогеназная активность (\%)} = \frac{100 \cdot (A570\text{нм опытный образец} - A570\text{нм blank})}{A570\text{нм контроль} - A570\text{нм blank}}, \quad (1)$$

где A570нм – оптическая плотность образца при длине волны 570 нм, blank – культуральная среда для определения фона культуральной среды.

В ходе исследований проведён физико-химический анализ шести образцов воды (по два типа воды в каждый из трёх

² ГОСТ Р 56219–2014 (ИСО 17294–2:2003). Вода. Определение содержания 62 элементов методом масс-спектрометрии с индуктивно связанный плазмой. [Электронный ресурс] Доступ из справ.-правовой системы Техэксперт.

³ ГОСТ Р ИСО 15587–2–2014. Вода. Минерализация проб азотной кислотой для определения некоторых элементов. [Электронный ресурс] Доступ из справ.-правовой системы Техэксперт.

⁴ Унифицированные методы анализа вод. Издание 2-е, исправленное. Под ред. д-ра хим. наук Ю.Ю. Лурье. Москва: изд-во «Химия». 376 с.

Таблица 1 / Table 1

Результаты исследований состава воды из поверхностного питьевого источника и питьевой воды перед подачей в распределительную сеть по ионному составу и обобщённым показателям
Results of testing the composition of surface water and treated drinking water before being distributed by ionic composition and integrated indicators

Показатель Indicator	Тип воды Type of water	Результаты измерений по сезонам года Test results by season			ПДК MAC
		Весна Spring	Лето Summer	Осень Fall	
Углерод растворённый общий ($C_{\text{общ}}$), мг/дм ³ Dissolved total carbon, mg/dm ³	Водоисточник / Water source	32.5	31.7	42.7	—
	Питьевая перед подачей в сеть Treated water before being distributed	19.2	22.2	36.4	—
Углерод растворённый неорганический ($C_{\text{неорг}}$), мг/дм ³ Dissolved inorganic carbon, mg/dm ³	Водоисточник / Water source	3.1	16.8	26.1	—
	Питьевая перед подачей в сеть Treated water before being distributed	4.3	14.7	22.2	—
Углерод растворённый органический ($C_{\text{орг}}$), мг/дм ³ Dissolved organic carbon, mg/dm ³	Водоисточник / Water source	29.4	14.9	16.6	—
	Питьевая перед подачей в сеть Treated water before being distributed	14.9	7.5	14.2	—
Кремний, мг/дм ³ Si, mg/dm ³	Водоисточник / Water source	7.1	2.4	3.2	25
	Питьевая перед подачей в сеть Treated water before being distributed	5.7	1.9	2.6	25
Жёсткость общая, мг-экв/дм ³ Total hardness, mg-eq/dm ³	Водоисточник / Water source	0.6	0.9	1.9	—
	Питьевая перед подачей в сеть Treated water before being distributed	0.7	0.9	1.8	7.0
Перманганатная окисляемость, мгО/дм ³ Permanganate acid capacity, mgO/dm ³	Водоисточник / Water source	15.6	7.2	6.9	—
	Питьевая перед подачей в сеть Treated water before being distributed	21.2	4.8	2.6	5
Сухой остаток, мг/дм ³ Dry residue, mg/dm ³	Водоисточник / Water source	153.0	149.0	94.0	—
	Питьевая перед подачей в сеть Treated water before being distributed	106.0	153.0	95.0	1000
Электропроводность, мкСм/см Electrical conductivity, $\mu\text{S}/\text{cm}$	Водоисточник / Water source	119.7	178.5	200.7	—
	Питьевая перед подачей в сеть Treated water before being distributed	143.0	202.0	203.0	—
Водородный показатель, pH	Водоисточник / Water source	7.9	8.2	8.3	—
	Питьевая перед подачей в сеть Treated water before being distributed	7.7	8.4	8.4	6.0–9.0
Нитраты, мг/дм ³ Nitrates, mg/dm ³	Водоисточник / Water source	0.2	0.0	0.0	45.0
	Питьевая перед подачей в сеть Treated water before being distributed	0.3	0.3	0.2	45.0
Нитриты, мг/дм ³ Nitrites, mg/dm ³	Водоисточник / Water source	0.1	0.4	0.1	3.0
	Питьевая перед подачей в сеть Treated water before being distributed	0.1	1.0	0.1	3.0
Сульфаты, мг/дм ³ Sulfates, mg/dm ³	Водоисточник / Water source	16.8	20.2	30.9	500
	Питьевая перед подачей в сеть Treated water before being distributed	10.6	17	29.5	500
Полифосфаты, мг/дм ³ Polyphosphates, mg/dm ³	Водоисточник / Water source	0.06	0.03	0.10	3.5
	Питьевая перед подачей в сеть Treated water before being distributed		0.10	0.10	3.5
Хлор остаточный свободный, мг/дм ³ Free residual chlorine, mg/dm ³	Питьевая перед подачей в сеть Treated water before being distributed	0.44	0.35	0.31	0.3–0.5
Хлор остаточный связанный, мг/дм ³ Bound residual chlorine, mg/dm ³	Питьевая перед подачей в сеть Treated water before being distributed	0.74	0.84	0.90	0.8–1.2

П р и м е ч а н и е. Величина погрешности каждого показателя лежит в границах, установленных методиками пределов.

Н о т е: The error value of each indicator is within the limits established by the limits methods.

Таблица 2 / Table 2

Результаты исследований состава воды из поверхностного питьевого источника и питьевой воды перед подачей в распределительную сеть по формам тяжёлых металлов и токсичных элементов

Results of testing the composition of surface water and treated drinking water before being distributed by forms of heavy metals and toxic elements

Элемент Element	ПДК, мкг/дм ³ MAC, μg/dm ³	Форма элемента Form of element	Результаты измерений по сезонам года, мкг/дм ³ / Measurement results by season, μg/dm ³					
			в водоисточнике / in a water source			в питьевой воде / in drinking water		
			Весна Spring	Лето Summer	Осень Fall	Весна Spring	Лето Summer	Осень Fall
Al	200	Растворённая / Dissolved	418.3	0.0	173.7	49.1	0.0	47.1
		Хелатная / Chelated	—	—	0.0	—	—	0.0
Ba	700	Растворённая / Dissolved	14.7	13.2	16.7	0.0	11.7	13.8
		Хелатная / Chelated	0.0	7.1	0.0	0.0	47.1	0.6
V	100	Растворённая / Dissolved	1.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		Хелатная / Chelated	0.3	3.2	0.0	1.3	3.9	0.0
Cd	1	Растворённая / Dissolved	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		Хелатная / Chelated	0.0	0.5	0.0	0.8	0.5	0.0
Mn	100	Растворённая / Dissolved	81.3	40.1	3.5	71.1	41.2	23.0
		Хелатная / Chelated	35.1	3.7	0.0	0.0	0.0	122.6
Cu	1000	Растворённая / Dissolved	4.3	0.0	1.2	0.0	0.0	0.0
		Хелатная / Chelated	29.9	0.0	37.8	0.0	0.0	681.4
Mo	70	Растворённая / Dissolved	0.6	0.0	1.6	0.0	0.0	0.6
		Хелатная / Chelated	0	22.3	19.9	1.5	38.1	254.7
As	10	Растворённая / Dissolved	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		Хелатная / Chelated	0.0	0.0	0.0	1.1	0.0	0.0
Ni	20	Растворённая / Dissolved	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		Хелатная / Chelated	1.2	3.5	0.3	0.0	10.1	232.0
Pb	10	Растворённая / Dissolved	0.0	0.0	2.0	0.7	0.0	0.0
		Хелатная / Chelated	0.0	0.0	6.0	7.4	0.0	0.0
Se	10	Растворённая / Dissolved	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		Хелатная / Chelated	1.7	13.3	0.0	0.0	10.7	0.0
Sr	7000	Растворённая / Dissolved	51.8	0.0	0.0	67.0	0.0	0.0
		Хелатная / Chelated	46.1	0.0	0.0	40.6	0.0	14.4
Sb	5	Растворённая / Dissolved	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		Хелатная / Chelated	0.0	0.0	0.6	0.0	0.0	0.0
Cr	50	Растворённая / Dissolved	3.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		Хелатная / Chelated	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Zn	5000	Растворённая / Dissolved	0.0	0.0	18.0	0.0	0.0	9.3
		Хелатная / Chelated	2.0	0.0	0.0	47.3	0.0	16.7
Fe	300	Растворённая / Dissolved	786.8	0.0	124.4	16.5	0.0	3.7
		Хелатная / Chelated	0.0	70.0	0.0	—	0.0	0.0

сезонов). Образцы воды экспонировали на шести опытных лунках с кератиноцитами с последующим измерением дегидрогеназной активности; в контрольных лунках (без добавления анализируемой воды) активность фермента культуры клеток измерена одиннадцатикратно. Исследование не охватило зимний сезон ввиду недостаточного объема доступной (выращенной) для биотестирования клеточной культуры.

Сравнение уровней активности фермента между четырьмя группами (контрольная и опытная в три сезона года) для каждого типа воды проводили с помощью критерия Краскела – Уоллиса. По результатам выборки построена описательная регрессионная модель зависимости уровня жизнеспособности (группирующая переменная) от показателей физико-химического состава (предикторов) в питьевом источнике и в питьевой воде с выбором наиболее значимых. Статистический анализ выполнен в программе Statistica 6.

Результаты

Обнаружена односторонняя зависимость между уровнем показателей в питьевой воде перед подачей в распределительную сеть и в водоисточнике. В обоих типах вод максимальные значения $C_{общ}$, $C_{неорг}$, сульфатов, электропроводности, pH выявлены осенью (табл. 1), тогда как пиковые значения уровня $C_{орг}$ и ПО – весной. При этом обнаружена существенная сезонная вариабельность в отношении показателей: разница между минимальным и максимальным уровнем $C_{неорг}$ в водоисточнике составляла 8,4 раза, а разница в уровне ПО в питьевой воде достигала 8,2 раза. Показатель ПО превышал ПДК⁵ в питьевой воде в 4,2 раза весной.

⁵ СанПиН 1.2.3685–21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания». [Электронный ресурс] Доступ из справ.-правовой системы Техэксперт.

Таблица 3 / Table 3

Результаты биотестирования воды на культуре клеток кератиноцитов человека

Results of water bioassay on human keratinocyte cell culture

Дегидрогеназная активность при экспозиции воды из водоисточника в сезоны года, % ± ошибка среднего			Дегидрогеназная активность при экспозиции питьевой воды в сезоны года, % ± ошибка среднего		
Dehydrogenase activity following exposure to water source by season, % ± error of the mean			Dehydrogenase activity following exposure to treated water by season, (%) ± error of the mean		
Весна / Spring	Лето / Summer	Осень / Fall	Весна / Spring	Лето / Summer	Осень / Fall
70.32 ± 1.74	89.42 ± 2.06	92.90 ± 4.46	88.39 ± 2.06	86.85 ± 5.59	96.27 ± 4.33

П р и м е ч а н и е. Значение дегидрогеназной активности контрольного образца составляло 100 ± 3,16%.

Н о т е: The value of dehydrogenase activity in the control sample was 100 ± 3.16%.

В сравнении с водоисточником в питьевой воде уровень pH и нитритов практически не изменялся, тогда как значения электропроводности, нитратов, ПО в питьевой воде возрастили.

В питьевой воде концентрации растворённых форм элементов снижались по сравнению с водоисточником (табл. 2).

Весной в воде водоисточника выявлены превышения величин ПДК растворённых форм элементов: Al – в 2,1 раза, Fe – в 2,6 раза. В питьевой воде превышений ПДК⁵ для данной формы элементов не выявлено. В отношении хелатных форм элементов обнаружена разнонаправленная тенденция изменения. Концентрации хелатных форм элементов в питьевой воде в разные сезоны изменились независимо от их содержания в водоисточнике. Некоторые химические элементы (например, Se, Cd, Ni, Zn) в питьевой воде были обнаружены только в хелатной форме, а в растворённой отсутствовали. Гигиенические нормативы для хелатных комплексов металлов и хелатированных форм металлов не разработаны. Но при сравнении действующих ПДК с обнаруженными концентрациями выявлено потенциальное превышение гигиенических нормативов: в воде источника по Se_{хелат} – в 1,3 раза; в питьевой воде по Mn_{хелат} – в 1,2 раза, Ni_{хелат} – в 11,6 раза, Se_{хелат} – в 1,1 раза.

Выявлено повышение уровня жизнеспособности кератиноцитов при экспозиции воды из поверхностного водоисточника от минимальных значений показателя весной до максимальных значений осенью (H(3, N = 29) = 17,21; p = 0,0006). Уровень жизнеспособности клеток при экспозиции питьевой воды, отобранный весной и летом, был одинаковым, тогда как осенью выявлено некоторое повышение уровня показателя (табл. 3). При этом значимых изменений в активности фермента в опыте с питьевой водой не выявлено (H(3, N = 29) = 6,62; p = 0,0851).

Установлен значимый предиктор, влияющий на уровень биологического ответа культур клеток при экспозиции воды из водоисточника и питьевой воды перед подачей в распределительную сеть города, – хелатированная форма марганца (Mn_{хелат}). Результаты описательного моделирования показали наличие зависимости уровня жизнеспособности от комбинированного влияния физико-химических показателей воды природной (уравнение (2); R² = 0,99; F(1,1) = 457,99; p < 0,03; n = 3) и питьевой (уравнение (3); R² = 0,98; F(1,1) = 42,48; p < 0,09; n = 3):

$$\text{Жизнеспособность клеток (по дегидрогеназной активности)} = 92,37 - 0,63 \cdot \text{Mn}_{\text{хелат}}, \quad (2)$$

$$\text{Жизнеспособность клеток (по дегидрогеназной активности)} = 87,62 + 0,07 \cdot \text{Mn}_{\text{хелат}}, \quad (3)$$

Диапазон действующих на клеточную культуру доз Mn_{хелат} в составе воды водоисточника составил от 0,0000 до 0,0035 мг/дм³ на 100 000 кл. в 1 сутки; наименьший уровень жизнеспособности клеток наблюдался при максимальной дозе. Диапазон действующих на клеточную культуру доз Mn_{хелат} в составе питьевой воды составил от 0,0000

до 0,0123 мг/дм³ на 100 000 кл. в 1 сутки; наибольший уровень жизнеспособности клеток отмечен при максимальной дозе. Разница между дозами Mn_{хелат}, при которых обнаружен наибольший токсический эффект от воздействия воды водоисточника, и отсутствием токсического эффекта питьевой воды составила 3,5 раза.

Обсуждение

По результатам проведённых исследований установлен вклад антропогенных факторов в формирование физико-химического состава питьевых водоисточников Свердловской области, а также недостаточная степень очистки питьевой воды в населённых пунктах [12–14].

Используемый при биотестировании тест-объект (культура кератиноцитов кожи человека) оказался чувствительным к одной из форм марганца – хелатированной, в то же время данный тест-объект оказался нечувствительным к растворённой форме марганца и к показателям, превышающим ПДК, в обоих типах воды. Выявленная закономерность между увеличением концентраций Mn_{хелат} в питьевой воде и высоким уровнем жизнеспособности клеток по сравнению с водой водоисточника может свидетельствовать о том, что происходящее во время водоподготовки хелатирование элемента снижает его токсичность. Процесс хелатирования во время подготовки питьевой воды, вероятно, связан с применением химических реагентов во время коагуляции и флокуляции.

Марганец присутствует в воде обычно в растворённой форме в виде Mn(II)³. Органические вещества и процессы комплексообразования марганца с неорганическими и органическими лигандами оказывают существенное влияние на его миграцию в растворённой и коллоидной формах. Mn(II) образует растворимые комплексы с бикарбонатами и сульфатами. Комплексные соединения Mn(II) с органическими веществами (аминами, органическими кислотами, аминокислотами и гумусовыми веществами) обычно менее прочны, чем аналогичные соединения с другими переходными металлами. Mn(III) в повышенных концентрациях может находиться в растворённом состоянии только в присутствии сильных комплексообразователей, а Mn(VII) в природных водах не встречается⁶.

Наибольшую токсичность для организма и культур клеток марганец проявляет при воздействии в ионной форме Mn²⁺ (особо опасно соединение MnCl₂), тогда как некоторые хелатированные формы (например, дипиридокальфосфат марганца) нетоксичны и применяются в терапевтических целях [15]. Хелатирование (частный случай комплексообразования) – это процесс связывания молекул лиганда с центральным атомом или ионом поливалентного металла посредством ациклической или кольцевой координационной связи [16, 17]. Многочисленные исследования показали, что гуминовые вещества в организме животных действуют

⁶ Логинова Е.В. Лопух П.С. Гидроэкология. Курс лекций. Минск: БГУ, 2011. 258 с.

на клеточном и субклеточном уровнях. Низкомолекулярные фракции гуминовых веществ проникают в клетку и включаются в обменные процессы, оптимизируя их и способствуя прохождению неорганических ионов через стенку кишечника [18]. Существует гипотеза, согласно которой биологическая активность гумусовых веществ зависит от их гидрофобных и гидрофильных свойств, а также особенностей взаимодействия с мембранами клеток. Явление сорбции гумусовых веществ на клетках экспериментально задокументировано, однако механизмы их проникновения в живые клетки изучены не до конца. Основная сложность, возникающая при изучении взаимодействия гумусовых веществ с живыми клетками, – отсутствие надёжной аналитической методики определения. В ходе исследований результаты получены преимущественно с использованием синтетических, а не природных гуминовых компонентов [19].

Процессы проникновения органических и металлогорганических соединений описаны в экспериментах на микроорганизмах. Так, продемонстрировано проникновение витамина B_{12} через TonB-зависимую транспортную систему с распознаванием с помощью специфичного для витамина B_{12} на внешней мемbrane рецептора BtuB у *E. coli* [20]. Распознавание комплексов Fe^{3+} -сидерофор (сидерофоры – хелаты железа микробного происхождения) осуществляется с помощью шести рецепторов данной транспортной системы [21]. Проникновение хелатированных форм элементов в клетки теплокровных организмов, по-видимому, становится возможным благодаря наличию специфических рецепторов и транспортных систем.

Одновременное присутствие мышьяка и органических лигандов в водоёмах создаёт угрозу здоровью человека, а высокая концентрация гидрофобных лигандов снижает эффективность удаления $As(V)$ и C_{org} при водоподготовке [22]. Данным фактом можно объяснить присутствие хелатированных форм элементов, в частности мышьяка, в питьевой воде. Присутствие хелатных комплексных соединений в питьевой воде формирует потенциальную угрозу здоровью. При изменении условий водоподготовки может произойти разрушение этих соединений, что приведёт к поступлению в воду тяжёлых металлов, токсичных элементов и органических лигандов, создаст условия для образования вредных галогенорганических соединений. Отсутствие значимого вклада ($p < 0,09$) выявленного предиктора $Mn_{хелат}$ в линейной регрессионной зависимости для питьевой воды даёт основание полагать, что активность фермента зависит от иных гидрохимических показателей, а также наличия нелинейных связей с предикторами.

По результатам проведённого моделирования отмечено отсутствие значимого влияния остаточного хлора на жизнеспособность клеток, несмотря на свойство данного дезинфектанта разрушать биологические мембранны, воздействовать на основные ферменты [23] и образовывать опасные галогенорганические соединения в питьевой воде [24].

В проводимых ранее исследованиях [25] по изучению биологических свойств воды из водохранилища, расположенного на другом участке р. Чусовой, установлен предиктор токсичности: растворённая форма железа. В связи с этим можно предположить существование различий в восприимчивости и устойчивости к гидрохимическим компонентам двух изучаемых культур клеток – фибробластов и кератиноцитов. Согласно данным Государственного

доклада⁷, для поверхностных водоисточников Уральского региона характерно повышенное природное содержание гуминовых веществ, железа и марганца. Существует естественный процесс – реакция Фентона, которая объединяет эти показатели. Данная реакция заключается в разрушении органических веществ при взаимодействии с ионами $Fe(II)$ и H_2O_2 , происходит как в условиях водоёмов, так и внутри организма [26, 27]. Показано, что $Mn(II)$ ускоряет реакцию Фентона, участвуя напрямую и катализически в окислительно-восстановительном цикле $Fe(III)/Fe(II)$ [28]. Следовательно, на данном этапе исследований можно заключить, что биологические свойства (токсичность) воды изучаемого водного объекта зависят от приоритетных региональных гидрохимических компонентов.

Таким образом, проведение биотестирования совместно с моделированием позволяет одновременно оценить токсическое воздействие всего спектра содержащихся в воде компонентов, установить вклад малоизученных компонентов физико-химического состава воды в формирование метаболического ответа. Использование культур клеток органов и систем, находящихся в контакте с водной средой и служащих проводником соединений в организм, позволит лучше изучить пути экспозиции различных компонентов, в том числе канцерогенных и токсичных, установить дозоответственные зависимости и спрогнозировать их токсикокинетические свойства.

Заключение

Проведена оценка качества воды поверхностного хозяйствственно-питьевого водоисточника и воды перед подачей в распределительную сеть города Свердловской области по показателям физико-химического состава. Обнаружена сезонная вариабельность показателей в водоисточнике, а также односторонняя зависимость изменений концентраций углерода и сульфатов, уровня электропроводности, pH, ПО в обоих типах вод. Выявлены превышения ПДК Al и Fe в водоисточнике, ПО в питьевой воде.

Проведено биотестирование воды на культуре клеток кератиноцитов человека методом МТТ-теста. Наименьшие значения показателя жизнеспособности, определяемого по дегидрогеназной активности клеток, выявлены при воздействии воды из водоисточника, отобранный в весенний сезон (70,32%), а максимальные значения – в осенний (92,9%). Уровень жизнеспособности кератиноцитов после воздействия питьевой водой был одинаково высоким в течение всех сезонов (от 86,85 до 96,27%).

Методом регрессионного анализа установлен предиктор клеточного ответа – $Mn_{хелат}$. При максимальном уровне $Mn_{хелат}$ выявлена наибольшая токсичность воды в водоисточнике, тогда как токсичные свойства питьевой воды отсутствовали. Применённый в биотестировании тест-объект оказался нечувствительным к показателям, превышающим ПДК, в водоисточнике и питьевой воде.

⁷ Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Свердловской области в 2023 году». Екатеринбург, 2024. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://www.66.rosptrebnadzor.ru/c/document_library/get_file?uuid=0432a3c6-299e-4329-b142-7d28a40c1c76&groupId=10156. Дата обращения: 05.09.2024 г. Время обращения: 22.20.

Литература (п.п. 1, 4–7, 9–11, 15–24, 26–28 см. References)

- Рахманин Ю.А., Мельцер А.В., Киселев А.В., Ерастова Н.В. Гигиеническое обоснование управленческих решений с использованием интегральной оценки питьевой воды по показателям химической безопасности и эпидемиологической безопасности. *Гигиена и санитария*. 2017; 96(4): 302–5. <https://elibrary.ru/yskuqhh>
- Мамонова И.А., Кошелева И.С., Широков А.А., Гусев Ю.С., Микеров А.Н. Использование культуры клеток человека для оценки токсичности

- воды (обзор литературы). *Гигиена и санитария*. 2023; 102(5): 509–15. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-5-509-515> <https://elibrary.ru/zifbgn>
- Богданова В.Д., Аленицкая М.В., Сахарова О.Б. Некоторые методические подходы к оценке риска здоровью, обусловленного качеством питьевой воды централизованных систем водоснабжения. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНиСО*. 2023; 31(1): 45–52. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2023-31-1-45-52> <https://elibrary.ru/pqkkdv>

12. Хлыстов И.А., Харькова П.К., Бугаева А.В., Замолоцких Т.В., Штин Т.Н., Гурвич В.Б. Определение индикативных показателей для организации мониторинга источников питьевого водоснабжения при изменении климатических условий. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНиСО*. 2022; 30(9): 84–90. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2022-30-9-84-90>
13. Харина Г.В., Алёшина Л.В. Анализ качества подземных вод Свердловской области. *Гигиена и санитария*. 2023; 102(3): 221–8. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-3-221-228>
14. Изиметова М.Ф. Гидрохимическая характеристика крупных водохранилищ Свердловской области. В кн.: *Экологический сборник 7: Труды молодых ученых. Всероссийская (с международным участием) молодежная научная конференция*. Тольятти; 2019: 199–201. <https://doi.org/10.24411/9999-010A-2019-10047>
25. Хлыстов И.А., Бушуева Т.В., Штин Т.Н., Карпова Е.П., Харькова П.К., Бугаева А.В. и др. Применение культуры фибробластов крысы для оценки токсических свойств воды. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНиСО*. 2023; 31(9): 38–44. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2023-31-9-38-44>

References

1. Peets P., Wang W.C., MacLeod M., Breitholtz M., Martin J.W., Krue A. MS2Tox machine learning tool for predicting the ecotoxicity of unidentified chemicals in water by nontarget LC-HRMS. *Environ. Sci. Technol.* 2022; 56(22): 15508–17. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c02536>
2. Rakhmanin Yu.A., Meltser A.V., Kiselev A.V., Erastova N.V. Hygienic substantiation of management decisions with the use of the integral assessment of drinking water on indices of chemical harmlessness and epidemiological safety. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2017; 96(4): 302–5. <https://elibrary.ru/ykuqhbt> (in Russian)
3. Mamanova I.A., Kosheleva I.S., Shirokov A.A., Gusev Yu.S., Mikerov A.N. Using human cell culture to assess the toxicity of water (literature review). *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102(5): 509–15. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-5-509-515>
4. Pamies D., Hartung T. 21st century cell culture for 21st century toxicology. *Chem. Res. Toxicol.* 2017; 30(1): 43–52. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.6b00269>
5. Wester R.C., Maibach H.I. Human skin binding and absorption of contaminants from ground and surface water during swimming and bathing. *J. Am. Coll. Toxicol.* 1989; 8(5): 853–9. <https://doi.org/10.3109/10915818909018044>
6. Supe S., Takudage P. Methods for evaluating penetration of drug into the skin: A review. *Skin Res. Technol.* 2021; 27(3): 299–308. <https://doi.org/10.1111/srt.12968>
7. WHO. Guidelines for drinking-water quality: Fourth edition incorporating the first and second addenda; 2022. Available at: <https://who.int/publications/item/9789240045064>
8. Bogdanova V.D., Alenitskaya M.V., Sakharova O.B. Some methodological approaches to assessing health risks related to potable water quality in centralized water supply systems. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya – ZNiSO*. 2023; 31(1): 45–52. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2023-31-1-45-52>
9. Vandenberg L.N., Rayasam S.D.G., Axelrad D.A., Bennett D.H., Brown P., Carignan C.C., et al. Addressing systemic problems with exposure assessments to protect the public's health. *Environ. Health*. 2023; 21(Suppl. 1): 121. <https://doi.org/10.1186/s12940-022-00917-0>
10. Xu X., Xu C., Xu L., Xu J. Emerging roles of keratinocytes in nociceptive transduction and regulation. *Front. Mol. Neurosci.* 2022; 15: 982202. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.982202>
11. Piipponen M., Li D., Landén N.X. The immune functions of keratinocytes in skin wound healing. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(22): 8790. <https://doi.org/10.3390/ijms21228790>
12. Khlystov I.A., Kharkova P.K., Bugaeva A.V., Zamolotskikh T.V., Shtin T.N., Gurvich V.B. Determination of key quality indicators for organization of potable water source monitoring under changing climatic conditions. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya – ZNiSO*. 2022; 30(9): 84–90. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2022-30-9-84-90>
13. Kharina G.V., Aleshina L.V. Analysis of the quality of groundwater in the Sverdlovsk region. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102(3): 221–8. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-3-221-228>
14. Izimetova M.F. Hydrochemical characteristics of large reservoirs of the Sverdlovsk Region. In: *Ecological Collection 7: Proceedings of the All-Russian Conference of Young Scientists «Urgent Environmental Problems of the Volga Basin» [Ekologicheskii sbornik 7: Trudy molodykh uchenykh. Vserossiiskaya (s mezhdunarodnym uchastiem) molodezhnaya nauchnaya konferentsiya]*. Tolyatti; 2019: 199–201. <https://doi.org/10.24411/9999-010A-2019-10047>
15. Toxicological Profile for Manganese. Atlanta; 2012. Available at: <https://atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp151.pdf>
16. Gulcin İ., Alwasel S.H. Metal ions, metal chelators and metal chelating assay as antioxidant method. *Processes*. 2022; 10(1): 132. <https://doi.org/10.3390/pr10010132>
17. Ahamed M.I., Lichtenfels E., Altalhi T., eds. *Remediation of Heavy Metals*. Cham: Springer; 2021. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-80334-6>
18. Bezuglova O.S., Klimenko A. Application of humic substances in agricultural industry. *Agronomy*. 2022; 12(3): 584. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030584>
19. Kulikova N.A., Perminova I.V., Badun G.A., Chernyshova M.G., Koroleva O.V., Tsvetkova E.A. Estimation of uptake of humic substances from different sources by *Escherichia coli* cells under optimum and salt stress conditions by use of tritium-labeled humic materials. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010; 76(18): 6223–30. <https://doi.org/10.1128/AEM.00905-10>
20. Pieńko T., Czarnecki J., Równicki M., Wojećichowska M., Wierzbę A.J., Gryko D., et al. Vitamin B₁₂-peptide nucleic acids use the BtuB receptor to pass through the *Escherichia coli* outer membrane. *Biophys. J.* 2021; 120(4): 725–37. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2021.01.004>
21. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2003; 67(4): 593–656. <https://doi.org/10.1128/MMBR.67.4.593-656.2003>
22. Inam M.A., Khan R., Akram M., Khan S., Park D.R., Yeom I.T. Interaction of arsenic species with organic ligands: Competitive removal from water by coagulation–flocculation–sedimentation (C/F/S). *Molecules*. 2019; 24(8): 1619. <https://doi.org/10.3390/molecules24081619>
23. Mahmood Y.H., Al-Hilali B.M., Khalaf A.T. Concentration of residual chlorine and its health effects in the drinking water of the Kirkuk City. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 2018; 11(1): 29–37. Available at: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/877290>
24. Amin M.M., Fatehizadeh A., Bagheri N. Rapid assessment of toxicity of chlorinated aqueous solution by dissolved oxygen depletion and optical density bioassays. *Environ. Health Eng. Manag.* 2020; 7(4): 271–6. <https://doi.org/10.34172/EHEM.2020.32>
25. Khlystov I.A., Bushueva T.V., Shtin T.N., Karpova E.P., Kharkova P.K., Bugaeva A.V., et al. Usage of rat fibroblasts to assess toxic properties of contaminated water. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya – ZNiSO*. 2023; 31(9): 38–44. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2023-31-9-38-44>
26. Li H., Ding S., Song W., Wang X., Ding J., Lu J. The degradation of dissolved organic matter in black and odorous water by humic substance-mediated Fe(II)/Fe(III) cycle under redox fluctuation. *J. Environ. Manag.* 2022; 321: 115942. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115942>
27. Barbusiński K. Fenton reaction – controversy concerning the chemistry. *Ecol. Chem. Eng. S.* 2009; 16(3): 347–58.
28. Yang Z., Shan C., Pignatello J.J., Pan B. Mn(II) acceleration of the picolinic acid-assisted Fenton reaction: New insight into the role of manganese in homogeneous Fenton AOPs. *Environ. Sci. Technol.* 2022; 56(10): 6621–30. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c08796>

Сведения об авторах

Хлыстов Иван Андреевич, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., зав. лаб. гигиены окружающей среды и экологии человека отд. комплексных проблем гигиены и профилактики заболеваний населения, ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: hlistovia@ymrc.ru

Карпова Елизавета Павловна, мл. науч. сотр. научно-производственного отд. «Лабораторно-диагностических технологий», ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: karpovaep@ymrc.ru

Бушуева Татьяна Викторовна, доктор мед. наук, зав. научно-производственным отд. «Лабораторно-диагностических технологий», ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: bushueva@ymrc.ru

Штин Татьяна Николаевна, канд. хим. наук, зав. отд. физико-химических методов исследования, ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: shtintn@ymrc.ru

Харькова Полина Константиновна, мл. науч. сотр. лаб. гигиены окружающей среды и экологии человека отд. комплексных проблем гигиены и профилактики заболеваний населения, ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: harkovapk@ymrc.ru

Information about the authors

Ivan A. Khlystov, PhD (Biology), Senior Researcher, Head of the Laboratory of Environmental Health and Human Ecology, Department of Complex Problems of Hygiene and Disease Prevention, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, 620014, Yekaterinburg, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-4632-6060> E-mail: hlistovia@ymrc.ru

Elizaveta P. Karpova, Junior Researcher, Research and Production Association of Diagnostic Technologies, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-0125-0063> E-mail: karpovaep@ymrc.ru

Tatiana V. Bushueva, DSc (Medicine), Head of the Research and Production Association of Diagnostic Technologies, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-5872-2001> E-mail: bushueva@ymrc.ru

Tatiana N. Shtin, PhD (Chemistry), Head of the Department of Physicochemical Analytical Methods, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-8846-8016> E-mail: shtintn@ymrc.ru

Polina K. Kharkova, Junior Researcher, Laboratory of Environmental Health and Human Ecology, Department of Complex Problems of Hygiene and Disease Prevention, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-7927-0246> E-mail: harkovapk@ymrc.ru
