

УДК 74.75.77.3;57.013

В.Ф. КОВАЛЕНКО, к. б. н., ст. наук. співроб.,
Інститут колоїдної хімії і хімії води ім. А.В. Думанського НАН України
бульвар Академіка Вернадського, 42, Київ, 03142, Україна
e-mail: kovalenko_vitali@ukr.net
ORCID 0000-0002-0860-8606

В.В. ГОНЧАРУК, д. х. н., акад. НАН України, директор,
Інститут колоїдної хімії і хімії води ім. А.В. Думанського НАН України
бульвар Академіка Вернадського, 42, Київ, 03142, Україна
e-mail: honch@icwc.kiev.ua

ВПЛИВ ВОДИ З РІЗНИМ ІЗОТОПНИМ СКЛАДОМ НА ЖИТТЄДІЯЛЬНІСТЬ ГІДРОБІОНТІВ

Природна вода забезпечує нормальну життєдіяльність тваринних і рослинних організмів. Вона має досить сталі співвідношення легких і важких ізотопів водню — протію та дейтерію. При зміні ізотопного складу водного середовища до легкої або важкої води життєдіяльність тварин і рослин пригнічується, порушується їхній метаболізм, що може призводити до загибелі. З огляду на це розглянуто біологічні властивості води зі зміненим ізотопним складом з використанням набору тваринних та рослинних тест-організмів. Встановлено, що як легка протієва вода (37,5 мг/кг дейтерію), так і важка дейтерієва вода (99,9 %) пригнічують життєдіяльність тест-організмів і призводять до їхньої загибелі. Дослідження впливу води зі зміненим ізотопним складом на ембріогенез прісноводних риб данію виявило, що у легкій воді (37,5 мг/кг) спостерігається зниження швидкості розвитку і поява аномалій у ембріонів, а у важкій воді (99,9 %) ікра риб не розвивається і гине.

Ключові слова: ізотопний склад води, легка і важка вода, біотестування, рослинні і тваринні тест-організми.

Вода є основою формування життя на Землі. Вона присутня в усіх біологічних об'єктах та більшості природних об'єктів. Її природні функції настільки різноманітні, що властивості та якість води впливають на фізіолого-біохімічний стан всіх живих організмів [5].

Живі істоти використовують воду як джерело, універсальний розчинник та носій поживних і необхідних організму речовин. Разом з ними в організм надходять й інші речовини, що не використовуються, і в процесі життєдіяльності разом з продуктами метаболізму видаляються за допомогою води [12]. Повноцінність засвоєння поживних речовин, а також повне видалення метаболітів залежать від інтенсивності та характеру

Ц и т у в а н н я: Коваленко В.Ф., Гончарук В.В. Вплив води з різним ізотопним складом на життєдіяльність гідробіонтів. *Гідробіол. журн.* 2026. Т. 62, № 2. С. 105—113.

обміну речовин. В основі обміну речовин знаходиться вода і, відповідно, всі обмінні процеси в організмі залежать від якості та властивостей води. У процесі еволюції тварини та рослини виробили здатність до самовідновлення та розмноження, і ці властивості також засновані на обміні речовин, який, у свою чергу, залежить від хімічної характеристики води, що вживається [5]. Тому з деякого часу до ідеї підвищення якості води очищенням додалася ідея зміни властивостей або якості води з метою оптимізації процесів обміну речовин, і така можливість перевіряється різними способами [3]. Крім фізико-хімічних властивостей, вчені вивчають біологічні властивості води, обробленої електричними, магнітними та електромагнітними полями, електричним струмом, ультразвуком та іншими фізичними впливами, серед іншого і їх комбінаціями [6]. Всебічні дослідження властивостей обробленої води виявили, що зміни якості води переважно є короткочасними і через деякий час після зняття впливу зникають. Результати дослідження властивостей особливо широко використовуються в техніці, знаходять деяке застосування в медицині для діагностики та лікування захворювань. Але спроби застосовувати воду, піддану спеціальним впливам, як засіб масового поліпшення здоров'я людей значних ефектів оздоровлення не виявили.

Одним із важливих фізико-хімічних показників води є її ізотопний склад [4]. Відомо, що водень має три ізотопи: Н — протій, D — дейтерій і Т — тритій. Природна вода складається з легкої протієвої води H_2O , важкої дейтерієвої D_2O , змішаної DHO та води з тритієм. Еволюційно всі живі організми адаптовані до природної води з постійним співвідношенням протію та дейтерію. З огляду на це можна гіпотетично припустити, що зміна ізотопного складу води може чинити негативний вплив на тварин і рослини.

Істотною обставиною є те, що стандартами на питну воду не регламентується ізотопний склад води [5]. Очевидною причиною цього є мала поінформованість щодо біологічних впливів на тваринні та рослинні організми води зі зміненим ізотопним складом, недостатність та незавершеність досліджень цих впливів.

Молекула важкої води (D_2O) складається з двох атомів дейтерію і атома кисню. Вода з формулою HDO називається напівважкою, а H_2O — легкою. Молекула важкої води доволі суттєво відрізняється за масою від молекули легкої води, внаслідок чого помітно відрізняються також її фізичні властивості (табл. 1) [19].

Природна вода містить невелику кількість атомів дейтерію у складі молекул напівважкої води HDO . Одна така молекула припадає на 3200—3800 молекул легкої води. Важкої води з формулою D_2O дуже мало, оскільки ймовірність зустрічі двох атомів дейтерію у складі однієї молекули води в природі мала ($\sim 0,5 \cdot 10^{-7}$) [15].

Частка дейтерію в природі коливається від ~ 100 до 170 мг/кг (ppm), залежно від географічного положення. Змінюється вона і рік від року. У середньому вміст дейтерію у воді становить 156 мг/кг. Крім двох ізоотопів водню, Н і D, молекула «звичайної» води містить один із трьох стабільних

Таблиця 1

Фізичні властивості важкої та легкої води

Властивості	D ₂ O (важка)	H ₂ O (легка)
Температура замерзання (°C)	3,82	0,0
Температура кипіння (°C)	101,4	100,0
Густина при нормальних умовах (г/см ³)	1,1056	0,9982
Температура максимальної густини (°C)	11,6	3,98
В'язкість (за 20 °C, мПа·с)	1,25	1,005
Поверхневий натяг (за 25 °C, мкДж)	7,193	7,197
Теплота плавлення (кал/моль)	1,515	1,436
Теплота випаровування (кал/моль)	10,864	10,515
pH (при 25 °C)	7,41	7,00
Показник поглинання (за 20 °C, на λ = 589,3 нм)	1,32844	1,33335

ізотопів кисню — ¹⁶O, ¹⁷O або ¹⁸O. Отже, можливі дев'ять конфігурацій молекул води: H₂¹⁶O, HD¹⁶O, D₂¹⁶O, H₂¹⁷O, HD¹⁷O, D₂¹⁷O, H₂¹⁸O, HD¹⁸O, D₂¹⁸O. Їх вміст з достатньою точністю відповідає статистичній імовірності обраної комбінації ізотопів. Так, на 1 000 000 молекул води припадає ~997 300 молекул H₂¹⁶O, а молекул, що містять атом дейтерію — <200. У воді, що міститься в організмі людини вагою 70 кг, кількість дейтерію еквівалентна 7—8 г чистої D₂O [14]. Атом водню входить до складу як води, так і органічних молекул. У природних умовах дейтерій поступово перерозподіляється в речовині. Штучна зміна вмісту дейтерію у будь-якій частині зразка призводить до встановлення нового рівноважного розподілу. Молекули води в рідкій фазі обмінюються протієм та дейтерієм за частки наносекунд. Коли водень або дейтерій входять до складу хімічних груп NH, для встановлення рівноваги потрібно до кількох днів, а рівновага у групах CH встановлюється за десятки й сотні тисяч років [15].

Хімічні реакції в середовищі важкої води проходять дещо повільніше порівняно зі звичайною водою, водневі зв'язки за участю дейтерію дещо міцніші за звичайні [16]. Експерименти над ссавцями (миші, щури, собаки) показали, що заміщення 25 % протію в тканинах дейтерієм призводить до стерильності, іноді незворотної [2]. Вищі концентрації призводять до швидкої загибелі тварини. Так, ссавці, що споживали важку воду протягом тижня, загинули, коли половина води в їхньому тілі була дейтерована; риби та безхребетні гинуть лише при 90 % дейтерованої води в організмі. Найпростіші здатні адаптуватися до 70 %-вого розчину важкої води, а водорості та бактерії здатні жити навіть у 100 %-вій дейтерованій воді.

Метою наших досліджень стало визначення впливу ізотопного складу води на життєдіяльність гідробіонтів на прикладі стандартних тест-організмів.

Матеріал і методика досліджень

Для з'ясування, яке співвідношення ізотопів водню у воді є оптимальним для нормальної життєдіяльності гідробіонтів, застосовували методику комплексного біотестування вод [1] з використанням набору тваринних та рослинних тест-організмів — представників різних систематичних груп і трофічних рівнів. Для комплексного біотестування легкої (37,5 мг/кг), природної та важкої (99,9 % дейтерію) води використовували гіллястовусих ракоподібних дафній (*Daphnia magna*) [7], представників хребетних — риб даніо (*Brachidanio rerio*) [8, 9], безхребетних кишково-порожнинних тварин гідр (*Hydra attenuata*, лабораторні культури) [18] і рослинний біотест *Allium cepa* [11].

Комплексна оцінка токсичності зразків води з використанням набору біотестів [1] дозволила дослідити вплив несприятливого чинника середовища на тваринні і рослинні організми. Для її кількісної інтерпретації використовували індекс сумарної токсичності (ІСТ), який являє собою суму окремих ефектів для біотестів, що включені в батарею (рис. 1). Максимальне значення для одного біотесту обмежується 100 % (загибель усіх тест-організмів). Так, наприклад, при використанні в батареї з п'яти біотестів максимальне значення ІСТ не може перевищувати 500 %. Значення ІСТ визначає, до якої категорії можна віднести досліджуваний зразок, виходячи з його впливу на тест-організми.

При виконанні процедур біотестування проводилася реєстрація гідрохімічних показників: концентрації розчиненого кисню за допомогою киснеміра Ажа-101м, величини водневого показника за допомогою портативного рН-метра рН-150М. У наших дослідженнях ці показники водного середовища відповідали параметрам, необхідним для нормальної життєдіяльності водних організмів: рівень кисню становив 5—8 мг О₂/дм³, величина рН коливалася в межах 6,5—8,5. Температура води підтримувалася на рівні 21—23 °С за допомогою кліматичних камер, світловий режим відповідав зміні дня і ночі.

Отримані за допомогою біотестування дані обробляли статистично за допомогою комп'ютерної програми Excel. Статистична значущість різниці між дослідною і контрольною групами тест-організмів за показниками виживаності і морфологічних змін розраховували за критерієм Стьюдента.

Проведення експериментів з *Daphnia magna*, *Hydra attenuata* і *Allium cepa* відповідає етиці наукових досліджень у біологічно-медичній галузі та у сфері охорони здоров'я стосовно їх відповідності моральним нормам і цінностям [10]. Що стосується хребетних тварин (риби *Brachidanio rerio*), то вони були штучно розмножені та утримувались в лабораторних умовах.

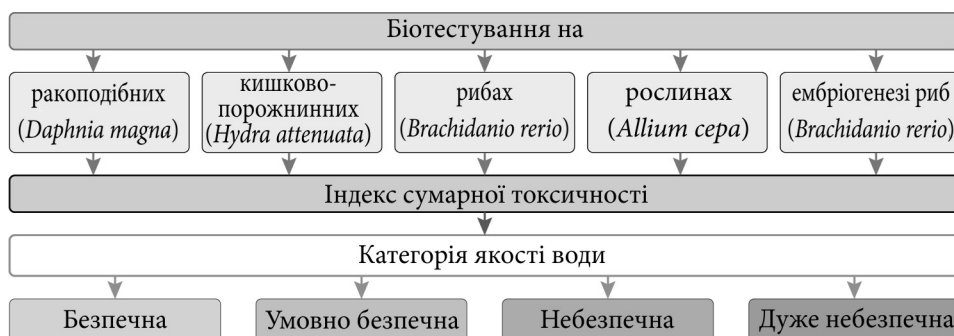


Рис. 1. Схема складових індексу сумарної токсичності (ІСТ)

Результати досліджень та їх обговорення

Дослідження біологічних властивостей води зі зміненим ізотопним складом за допомогою набору тваринних і рослинних тест-організмів показали, що як легка протієва вода (37,5 мг/кг дейтерію), так і важка дейтерієва вода (99,9 %), пригнічували їхню життєдіяльність і призводили до загибелі (табл. 2). Але якщо у важкій воді гідробіонти гинули протягом перших 5 год, а рослинні тест-організми не проростали протягом стандартної експозиції (96 год), то у легкій воді спостерігалась летальність окремих тест-організмів через 48—96 год. Продовження експерименту з легкою водою до 10 діб викликало масову загибель гідробіонтів порівняно з контролем, де спостерігалось 100 % виживання тест-організмів.

Дослідження впливу води зі зміненим ізотопним складом на ембріогенез прісноводних риб данію показало подібні результати. У легкій воді (37,5 мг/кг) спостерігалось зниження швидкості розвитку і поява аномалій розвитку ембріонів, а у важкій воді (99,9 %) ікра риб не розвивалася і гинула (рис. 2).

Проведені дослідження біологічних властивостей води зі зміненим ізотопним складом дозволяють припустити, що у процесі свого еволю-

Таблиця 2

Результати біотестування зразків води зі зміненим ізотопним складом

Вода	Смертність, %			Інгібування росту корінців <i>A. cepa</i> , %	Індекс сумарної токсичності	Токсичність
	<i>D. magna</i>	<i>H. attenuata</i>	<i>B. rerio</i>			
Реконструйована (контроль)	0	0	0	0	0	Відсутня
Легка	79,3±6,0	71,7±5,8	30,0±5,0	32,4±2,8	210	Хронічна
Важка	100	100	100	100	400	Гостра

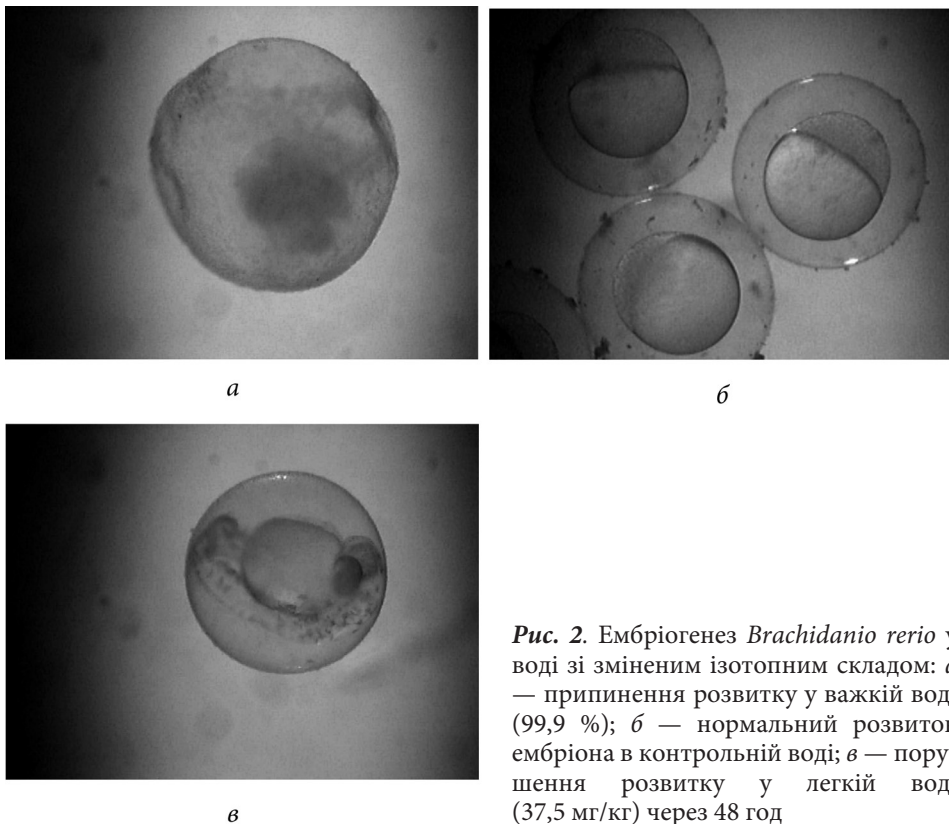


Рис. 2. Ембріогенез *Brachidanio rerio* у воді зі зміненим ізотопним складом: *a* — припинення розвитку у важкій воді (99,9 %); *б* — нормальний розвиток ембріона в контрольній воді; *в* — порушення розвитку у легкій воді (37,5 мг/кг) через 48 год

ційного розвитку всі живі організми адаптувалися до води з певним співвідношенням протію і дейтерію. Отже, всі організми та їхні внутрішньоклітинні обмінні процеси можуть функціонувати лише в умовах надходження в організм природної води зі сталим співвідношенням дейтерію і протію.

Таким чином, природна вода забезпечує тваринним та рослинним організмам, зокрема гідробіонтам, нормальне протікання процесів життєдіяльності. При зміні ізотопного складу водного середовища до легкої або важкої води життєдіяльність тварин і рослин пригнічується, порушується їхній метаболізм, що може призводити до загибелі.

Зважаючи на той факт, що у природній воді ізотопу водню протію у 6400 разів більше, ніж дейтерію, можна припустити, що живі організми легше переносять легку воду, ніж важку. До того ж сполуки важкого водню набагато стійкіші за відповідні сполуки легкого (наприклад, пероксиди дейтерію D_2O_2 і протію H_2O_2). В органічних хімічних сполуках, що входять до складу живих тканин, дейтерієва вода менш активна, тому не включається в обмінні процеси і гальмує їх.

Доведено, що найчутливішими до ізотопних ефектів дейтерію є біологічні системи [13]. Присутність дейтерію в біологічних системах призводить до змін структури та властивостей життєво важливих макромо-

лекул, таких як дезоксирибонуклеїнові кислоти (ДНК) та білки. Найважливішими для підтримки структури макромолекули є водневі зв'язки. Вони формуються між сусідніми атомами дейтерію (водню) та гетероатомами кисню, вуглецю, азоту, сірки тощо і відіграють головну роль у визначенні структури макромолекулярних ланцюгів, їхньої взаємодії між собою і водним середовищем.

Конформація подвійної спіралі макромолекули ДНК і макромолекул білків змінюються у присутності важкої води. Так макромолекули звичайних білків, поміщені у важку воду мають більш стійку просторову структуру внаслідок вторинних ізотопних ефектів важкої води [17]. Імовірно, саме через це важка вода стабілізує просторову структуру спіралі макромолекул завдяки формуванню численних непостійних нетривалих водневих зв'язків з карбоксильними, карбонільними, гідроксильними, сульфідними та аміногрупами макромолекул. Тоді як ковалентні зв'язки атома дейтерію можуть утворюватися в молекулах лише *de novo*, тобто у процесі біосинтезу, і призводити до дестабілізації дейтерованих молекул.

Відчутні зміни протікання біохімічних процесів у клітинах впливають на їхню здатність до поділу у присутності важкої води. Важка вода уповільнює швидкість поділу клітини (мітоз) у стадії профазі, і особливо цей ефект виражений для клітин, що швидко діляться (наприклад, ембріональних клітин). Цей ефект пропорційний концентрації важкої води в середовищі.

Група вчених [14] досліджувала зміни метаболічних процесів у тварин (телята 4-місячного віку), яких напували водою зі зниженим вмістом дейтерію. Отримані дані свідчать про те, що споживання тваринами легкої води призводить до зміни ізотопного складу води сечі, до зниження концентрації кальцію в сечі, до зменшення вмісту кальцію, магнію та кадмію у волоссяному покриві та до збільшення концентрації креатиніну в сечі й сироватці крові при збереженні співвідношення концентрацій кров/сеча.

Поки накопичено лише первинні відомості щодо токсикології дейтерію, досліджувати його дію на людині дуже небезпечно. Першим кроком у практичному використанні збідненої дейтерієм води може бути застосування її в раціоні персоналу на виробництві важкої води як профілактичний засіб.

Висновки

Отже, зміни у співвідношенні ізотопів протію і дейтерію у водному середовищі можуть активізувати або пригнічувати біохімічні процеси водних організмів.

Аналіз літературних даних та результатів власних досліджень показав, що всі тварини і рослини в процесі еволюції адаптувалися до існування в природній воді з певним сталим співвідношенням легких і важких ізотопів. Частка дейтерію в природі коливається від ~100 до 170 мг/кг, залежно від географічного положення. У середньому вміст дейтерію у воді становить 156 мг/кг. Такий вміст дейтерію за результатами комплексного

біотестування забезпечує нормальну життєдіяльність тваринних і рослинних тест-організмів. Зміна цього співвідношення ізотопів протію і дейтерію у воді в той чи інший бік призводить до порушень обміну речовин в організмі, а в подальшому — до загибелі. Таким чином, ізотопний ефект дейтерію може активізувати або пригнічувати біохімічні процеси водних організмів.

Список використаної літератури

1. Архипчук В.В., Малиновская М.В. Применение комплексного подхода в биотестировании природных вод. *Хімія і технологія води*. 2000. Т. 22. № 4. С. 428—443.
2. Билобров В.М., Богдан Н.М., Хомукова Е.В. и др., Биофизические аспекты гомеостаза. Проблемы екології та охорони природи техногенного регіону. 2012, № 1 (11). С. 291—303.
3. Гвоздяк П.І. Біохімія води перспективний науковий напрям. *Вісн. НАН України*. 2006. № 9. С. 21—23.
4. Глосарій термінів з хімії // Й. Опейда, О. Швайка. Ін-т фізико-органічної хімії та вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України, Донецький нац. ун-т. Донецьк: Вебер, 2008. 758 с.
5. Гончарук В.В. Наука о воде. Київ: Наук. думка, 2010. 512 с.
6. Душкин С.С., Благодарная Г.И. Основные направления подготовки экологически чистой питьевой воды. *Наук. Вісн. будівництва*. 2008. Вип. 49, С. 65—68.
7. ДСТУ 4173-2003. Якість води. Визначання гострої летальної токсичності на *Daphnia magna* Straus та *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea) (ISO 6341:1996, MOD).
8. ДСТУ 4074-2001. Якість води. Визначання гострої летальної токсичності хімічних речовин та води на прісноводній рибі [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]. Статичний метод (ISO 7346-1:1996, MOD).
9. ДСТУ ISO 12890: 2005 Якість води, Визначення токсичності на ембріонах та ікрі прісноводних риб. Напівстатичний метод (ISO 12890: 1999, IDT).
10. Сидоренко Л.І. Сучасна екологія. Наукові, етичні та філософські ракурси. Київ: Парапан, 2002. 152 с.
11. Fiskesju G. The Allium test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*. 1985, N 102. P. 99—112.
12. Goncharuk V.V., Kovalenko V.F., Theoretical aspects of natural and drinking water biotesting. *J. Water Chem. and Technol.* 2012. Vol. 34, N 2. P. 103—106.
13. Gurov Y.B. Spectroscopy of superheavy hydrogen isotopes in stopped-pion absorption by nuclei. *Physics of Atomic Nuclei*. 2005. Vol. 68 N 3. P. 491—497.
14. Katz J.J., Crespi H.L. Deuterated organisms: cultivation and uses. *Pure Appl. Chem.* 1972. Vol. 32. P. 221—250.
15. Kushner D.J., Baker A., Dunstall T.G. Pharmacological uses and perspectives of heavy water and deuterated compounds. *J. Physiol. Pharmacol.* 1999. Vol. 77, N 2. P. 79—88.
16. Mosin O.V., Ignatov I. Microbiological synthesis of ²H-labeled phenylalanine, alanine, valine, and leucine/isoleucine with different degrees of deuterium enrichment by the gram-positive facultative methylotrophic bacterium *Brevibacterium methylicum*. *Int. J. Biomedicine*. 2013. Vol. 3, N 2. P. 132—138.
17. Shchepinov M.S. Reactive oxygen species, isotope effect, essential nutrients and enhanced longevity. *Rejuvenation Res.* 2007. Vol. 10. N 1. P. 47—60.
18. Trottier S., Blaise C., Kusui T., Johnson E.M. Acute toxicity assessment of aqueous samples using a microplate-based *Hydra attenuate* assay. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 1997. Vol. 12. P. 265—271.
19. Vertes A. Physiological effects of heavy water. Elements and isotopes: formation, transformation, distribution. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 2004. 112 p.

Надійшла 29.06.2024

V.F. Kovalenko, PhD (Biol.), Senior Researcher,
A.V. Dumansky Institute of Colloid Chemistry and Water Chemistry
of the NAS of Ukraine,
Academician Vernadsky Boulevard, 42, Kyiv, 03142, Ukraine
e-mail: kovalenko_vitali@ukr.net

V.V. Goncharuk, Dr. Sci. (Biol.), Academician of the NAS of Ukraine, Director,
A.V. Dumansky Institute of Colloid Chemistry and Water Chemistry
of the NAS of Ukraine,
Academician Vernadsky Boulevard, 42, Kyiv, 03142, Ukraine,
e-mail: honch@iccwc.kiev.ua

THE INFLUENCE OF WATER WITH DIFFERENT ISOTOPIC COMPOSITION ON
THE LIFE ACTIVITY OF HYDROBIONTS

Natural water ensures the normal life of animal and plant organisms. It has a fairly stable ratio of light and heavy hydrogen isotopes — protium and deuterium. When the isotopic composition of the aquatic environment changes to light or heavy water, the vital activity of animals and plants is inhibited, their metabolism is disrupted, which can lead to death. In view of this, the biological properties of water with a changed isotopic composition were considered using a set of animal and plant organisms. It has been established that both light protium water (37.5 mg/kg deuterium) and heavy deuterium water (99.9 %) inhibit the vital activity of test organisms and lead to their death. A study of the effect of water with altered isotopic composition on the embryogenesis of freshwater fish revealed that in light water (37.5 mg/kg) there is a decrease in the rate of development and the appearance of abnormalities in embryos, and in heavy water (99.9 %) fish eggs do not develop and die.

Keywords: *isotopic composition of water, light and heavy water, bioassay, plant and animal test-organisms.*