

**ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

Кафедра загальної та прикладної екології і зоології

**Кваліфікаційна робота
магістра**

на тему ВПЛИВ ГУМІНОВИХ РЕЧОВИН НА ІНТЕНСИВНІСТЬ РОСТУ
ПІГМЕНТСИНТЕЗУВАЛЬНОЇ БАКТЕРІЇ *SERRATIA MARCESCENS*

Виконала: студентка 2 курсу, групи 8.1019

спеціальності 101 Екологія

освітньо-професійної програми «Екологія та охорона
навколишнього середовища»

Сапрунова Т.О.

Керівник _____ зав. каф., професор, д.б.н. Рильський О.Ф.

Рецензент _____ доцент, доцент, к.б.н. Воронова Н.В.

Запоріжжя – 2020

ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Біологічний факультет
Кафедра загальної та прикладної екології і зоології
Рівень вищої освіти магістр
Спеціальність 101 Екологія
Освітньо-професійна програма Екологія та охорона
навколишнього середовища

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри загальної та прикладної
екології і зоології,
д.б.н., проф.

О.Ф. Рильський

« ____ » _____ 20__ року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТЦІ

Сапруновій Тетяні Олександрівні

1. Тема роботи Вплив гумінових речовин на інтенсивність росту пігментсинтезувальної бактерії *Serratia marcescens*
керівник роботи Рильський Олександр Федорович, зав. каф., професор, д.б.н.
затверджена наказом ЗНУ від «13» липня 2020 р. № 1027-с
1. Строк подання студентом роботи грудень 2020 року
2. Вихідні дані до роботи матеріали експериментальних досліджень; особисті спостереження; літературні посилання на авторів
3. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) 1) надати фізико-хімічну характеристику гумінових речовин за показниками: температура, ОВП, рН, питома в'язкість та електропровідність; 2) з'ясувати вплив гумату натрію в різних концентраціях на динаміку росту бульйонних культур *Serratia marcescens*, *Rhodotorula mucilaginosa* та *Rhodotorula rubra*; 3) визначити інтенсивність синтезу пігментоутворення бактеріальної культури *Serratia marcescens* за дії гумінових речовин різної концентрації при рості на твердому живильному середовищі МПА та дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa* і *Rhodotorula rubra* на середовищі Сабуро; 4) порівняти вплив гуматів на прокариотів бактерій та еукаріотів дріжджів
4. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень) Таблиці 3.1-3.7, рисунки 3.1-3.3.

5. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ім'я, по-батькові та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
4	Притула Н.М., доц., к. с. г. н., доцент		

6. Дата видачі завдання 11.09.2020

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітки
1.	Огляд літературних джерел. Написання відповідного розділу роботи.	січень-березень 2020	Виконано
2.	Вивчення, засвоєння методик дослідження. Написання відповідного розділу роботи.	березень-квітень 2020	Виконано
3	Засвоєння правил техніки безпеки під час виконання експериментальної частини. Написання відповідного розділу роботи.	травень-червень 2020	Виконано
4	Проведення експериментальних досліджень. Оформлення результатів експерименту (таблиці, рисунки). Написання відповідного розділу роботи.	вересень-жовтень 2020	Виконано
5	Оформлення кваліфікаційної роботи. Передзахист роботи.	жовтень-грудень 2020	Виконано
6	Рецензування кваліфікаційної роботи.	грудень 2020	Виконано
7	Захист кваліфікаційної роботи	грудень 2020	Виконано

Студентка _____

Т.О. Сапрунова

Керівник роботи _____

О.Ф. Рильський

Нормоконтроль пройдено

Нормоконтролер

Н.М. Притула

РЕФЕРАТ

В роботі 78 сторінок, 7 таблиць, 3 рисунка, 11 фотокарток, було використано 72 літературних джерела, із них 13 іноземною мовою.

Об'єктом дослідження є культуральні властивості та інтенсивність синтезу пігменту продигіозину грамнегативної бактеріальної культури *Serratia marcescens* MP-141 та каротиноїдних пігментів дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 і *Rh. rubra* RA-10 під впливом гумінових речовин.

Предметом дослідження є динаміка росту бактеріальних та дріжджових культур, а також інтенсивність пігментоутворення.

Методи досліджень: фізико-хімічні, мікробіологічні, фотоколориметрії, аналітичні, статистичні.

Метою кваліфікаційної роботи є: дослідження впливу гумінових речовин на інтенсивність росту та пігментоутворення бактеріальної культури *Serratia marcescens* MP-141 та дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 і *Rhodotorula rubra* RA-10.

Теоретично та експериментально визначено: фізико-хімічні параметри розчину гумату натрію; вплив гумату натрію на криву зростання бульйонної культури *Serratia marcescens* MP-141 та дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394, *Rh. rubra* RA-10; вплив гумінових речовин на синтез пігменту продигіозину у *Serratia marcescens* MP-141 та пігменту дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394, *Rh. rubra* RA-10.

ГУМІНОВІ РЕЧОВИНИ, ПІГМЕНТ, БІОМАСА, *SERRATIA MARCESCENS*, *RHODOTORULA MUCILAGINOSA*, *RHODOTORULA RUBRA*

ABSTRACT

In the work of 78 pages, 7 tables, 3 figures, 11 photographs, 72 literary sources were used, 13 of them in a foreign language.

The object of the study is the cultural properties and intensity of synthesis of prodigiosin pigment of gram-negative bacterial culture *Serratia marcescens* MP-141 and carotenoid pigments of yeast *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 and *Rh. rubra* RA-10 under the influence of humic substances.

The subject of the study is the growth dynamics of bacterial and yeast cultures, as well as the intensity of pigmentation.

Research methods: physicochemical, microbiological, photolorimetry, analytical, statistical.

The purpose of the qualification work is to study the effect of humic substances on the intensity of growth and pigmentation of bacterial culture *Serratia marcescens* MP-141 and yeast *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394, *Rh. rubra* RA-10.

Theoretically and experimentally determined: physicochemical parameters of sodium humate solution; influence of sodium humate on the growth curve of broth culture *Serratia marcescens* MP-141 and yeast *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394, *Rh. rubra* RA-10; influence of humic substances on the synthesis of prodigiosin pigment in *Serratia marcescens* MP-141 and yeast pigment *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394, *Rh. rubra* RA-10.

HUMAN SUBSTANCES, PIGMENT, BIOMASS, *SERRATIA MARCESCENS*, *RHODOTORULA MUCILAGINOSA*, *RHODOTORULA RUBRA*.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	8
ВСТУП.....	9
1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	11
1.1 Гумінові речовини, їх біосферні функції та властивості.....	11
1.2 Хімічна структура гумінових речовин	14
1.3 Застосування гумінових речовин в рослинництві та тваринництві	18
1.4 Використання мікроорганізмами гумінових речовин	24
1.5 Методи вилучення гумінових речовин із торфу та їх ідентифікація	27
1.6 Бактеріальна культура <i>Serratia marcescens</i>	28
1.7. Дослідження пігментів дріжджів.....	34
1.8. Дріжджові культури <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> та <i>Rhodotorula rubra</i>	34
2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	36
2.1 Об'єкт дослідження.....	36
2.2 Лабораторні дослідження	36
2.2.1 Отримання розчину гумату натрію із перехідного торфу	38
2.2.2 Визначення фізико-хімічних показників розчину гумату натрію.....	38
2.2.3 Визначення динаміки росту бульйонної культури <i>Serratia marcescens</i> <i>MP-141</i> фотоелектроколометричним методом	40
2.2.4 Визначення динаміки росту бульйонних культур дріжджів роду <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Y-1394 та <i>Rh. rubra</i> RA-10 фотоелектроколометричним методом	41
2.2.5 Визначення інтенсивності росту пігментоутворення бактеріальної культури <i>Serratia marcescens</i> MP-141	41

2.2.6	Визначення інтенсивності росту пігментоутворення дріжджових культур <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Y-1394 та <i>Rh. rubra</i> RA-10	42
2.3	Статистична обробка отриманих результатів.....	43
3	ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	45
3.1	Фізико-хімічні параметри розчину гумату натрію	45
3.2	Вплив гумату натрію на криву зростання бульйонної культури <i>Serratia marcescens</i> MP-141	46
3.3	Вплив гумату натрію на криву зростання бульйонних культур дріжджів <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Y-1394 та <i>Rh. rubra</i> RA-10	49
3.4	Вплив гумінових речовин на синтез пігменту продигіозину у <i>Serratia marcescens</i> MP-141	53
3.5	Вплив гумінових речовин на синтез пігменту дріжджів <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Y-1394 та <i>Rh. rubra</i> RA-10.....	55
4	ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ	58
	ВИСНОВКИ	64
	ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	65
	ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ.....	Ошибка! Закладка не определена.
	ДОДАТКИ	Ошибка! Закладка не определена.
	Додаток А	Ошибка! Закладка не определена.
	Додаток Б.....	Ошибка! Закладка не определена.
	Додаток В.....	Ошибка! Закладка не определена.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ГР – гумінові речовини

ГК – гумінові кислоти

ФК – фульвокислоти

ПАР – поверхнево-активні речовини

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

МПА – м'ясо-пептонний агар

МПБ – м'ясо-пептонний бульйон

ВСТУП

Актуальність дослідження кваліфікаційної магістерської роботи полягає в тому, що наразі Україна, як і весь світ все більше уваги приділяє дослідженням впливу гумінових речовин на мікроорганізми різних груп, оскільки до теперішнього часу недостатньо вивченою є дія гумінових речовин на них. Найновітніша інформація щодо природи та властивостей гуматів широко відображена в різноманітних українських та міжнародних джерелах інформації. Гумінові речовини – це складні суміші стійких до біодеструкції високомолекулярних темно фарбованих органічних сполук природного походження, що утворюються при розкладанні рослинних і тваринних залишків під дією мікроорганізмів і абіотичних чинників середовища [1, 2]. До теперішнього часу розроблені методи виділення гумінових речовин з різних природних об'єктів, визначено їх хімічний склад, всі найважливіші властивості. Виявлено можливості їх використання в промисловому виробництві і сільському господарстві.

Метою кваліфікаційної роботи є: дослідження впливу гумінових речовин на інтенсивність росту та пігментоутворення бактеріальної культури *Serratia marcescens* MP-141 та дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 і *Rhodotorula rubra* RA-10.

Для досягнення поставленої мети було сформовано та виконано такі **завдання:**

- 1) надати фізико-хімічну характеристику гумінових речовин за показниками: температура, ОВП, рН, питома в'язкість та електропровідність;
- 2) з'ясувати вплив гумату натрію в різних концентраціях на динаміку росту бульйонних культур *Serratia marcescens* MP-141, *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 та *Rhodotorula rubra* RA-10;
- 3) визначити інтенсивність синтезу пігментоутворення бактеріальної культури *Serratia marcescens* MP-141 за дії гумінових речовин різної

концентрації при рості на щільному живильному середовищі МПА та дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 і *Rh. rubra* RA-10 на середовищі Сабуро;

4) порівняти вплив гуматів на прокаріотів бактерій та еукаріотів дріжджів.

Об'єктом дослідження є культуральні властивості та інтенсивність синтезу пігменту продигіозину грамнегативної бактеріальної культури *Serratia marcescens* MP-141 та каротиноїдних пігментів дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 і *Rh. rubra* RA-10 під впливом гумінових речовин.

Предметом дослідження є динаміка росту бактеріальних та дріжджових культур, а також інтенсивність пігментоутворення.

Методи дослідження: фізико-хімічні, мікробіологічні, фотоколориметрії, аналітичні, статистичні.

Наукова новизна дістало подальшого вивчення дослідження з визначення стимулюючого ефекту гумінових речовин на синтез пігменту продигіозину в *Serratia marcescens* MP-141, які раніше не проводилися. Вперше вивчався вплив гуматів на пігментсинтезувальну здатність еукаріотичних клітин на прикладі дріжджів роду *Rhodotorula*.

Значення результатів наукового дослідження полягає в розширенні уявлення про вплив гумінових речовин на інтенсивність росту та пігментоутворення прокаріотичної культури *Serratia marcescens* та еукаріотичних культур дріжджів роду *Rhodotorula*.

Результати експериментальних досліджень кваліфікаційної роботи магістра можуть бути використані у змісті навчальних дисциплін: «Екологічна мікробіологія і вірусологія», «Біоіндикація та біотестування», «Ґрунтознавство», «Біофізика» та «Біологічні методи очистки стічних вод».

Основні положення та результати дослідження доповідалися й обговорювалися на VIII Регіональній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук».

За матеріалами дослідження опубліковано друкованих праць: тези за матеріалами наукових конференцій.

1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Гумінові речовини, їх біосферні функції та властивості

Останнім часом збільшився ріст інтенсивних досліджень, які пов'язані з вивченням, отриманням та використанням гумінових речовин. Адже, гумати – багатофункціональні сполуки, які мають безліч хімічних та біологічних властивостей.

Відомо, що гумінові речовини – одні з найскладніших за будовою органічні речовини, в цьому вони складніші навіть за нафту, лігніти та вугілля. Важливим джерелом гумусових та гумінових речовин є торф. В основному, торф використовується на паливо та місцеві добрива. Якщо з нього вилучати гумінові речовини, а решту спалювати, то цей унікальний природних ресурс можливо використовувати більш раціонально [1].

Гумінові речовини – це високомолекулярні з'єднання змінного складу і нерегулярної структури [2].

У 1786 році німецький хімік Франц Карл Ахард (1753-1821) при взаємодії торфу і луку отримав речовину з унікальною будовою, хімічним складом і властивостями. У 1796 році французький хімік Луї Ніколя Воклен (1763-1829) провів подібну реакцію між лугом і деревиною старого в'яза й одержав аналогічну речовину. Як виявилось пізніше, отримані Ф. Ахардом і Л. Вокленом гумінові речовини є аналогами речовин, які з'являються у результаті природних процесів розкладання органічних залишків у ґрунті. Саме вони є накопичувачами родючості ґрунтів, мають здатність впливати на ґрунтові обмінні процеси, виділяючи в ґрунтовий субстрат фізіологічно-активні речовини та елементи живлення, які забезпечують інтенсивний розвиток ґрунтових мікроорганізмів, рослин, біоценозу в цілому. Гумінові речовини покращують структуру, підсилюють волого утримуючу здатність і буферність ґрунту, запобігаючи повному розпаду органічних речовин у ґрунті на простий набір хімічних елементів [3].

За своїм генезисом гумінові речовини – особлива гранична стадія фізичного, хімічного та мікробіологічного процесів трансформації органічної речовини у природі. Унікальність їх властивостей визначають ґрунтоутворюючі процеси та родючість ґрунтів, а також розкладання гірських порід та мінералів, зв'язування, фіксація, концентрація, розсіювання та перевідкладання хімічних елементів.

Розглядаючи роль гумінових речовин в біосфері, виходять з того, що ці сполуки є не випадковим продуктом постмортальних перетворень біомаси, а необхідною ланкою в еволюції біосфери, найважливішим фактором стійкості життєвих процесів. Механізми взаємодії живих клітин з полімерами нерегулярної будови типу гумінових кислот почали формуватися на найперших етапах виникнення живих організмів, і вже закінчений розвиток отримали з появою клітин еукаріот. Пізніше, в ході передбіологічної еволюції і на перших етапах біологічної еволюції, виникли з'єднання близькі за будовою до сучасних гумінових кислот океанів. Найбільш молодими в ряду природних полімерів нерегулярної будови є власне ГР, синтез сучасних аналогів яких протікає в континентальних екосистемах. Початок їх формування пов'язаний з появою наземних рослин, у складі яких з'являються протолігніни – попередники лігнінів сучасних вищих рослин [4].

Гумінові речовини – це сукупність сполук, які утворюються в процесах розкладання і трансформації рослинних і тваринних решток, і які не мають аналогів в живих організмах і характеризуються темним забарвленням, полідисперсністю, високими молекулярними масами і біотермодинамічною стійкістю [5].

До функціональних властивостей гумінових речовин належать нестехіометричність складу, нерегулярність будови, гетерогенність структурних елементів, висока молекулярна маса.

Ці речовини містять великий набір функціональних груп, як позитивно (азогрупи, аміни, іміни, пептидні), так і негативно заряджених (спиртові, фенольні, альдегідні, кетонні, карбоксильні, метоксильні й ін.), що визначає

широкий спектр хімічної активності ГР за рахунок їхньої здатності до абсорбційної, іоніонної та донорно-акцепторної взаємодії. Не будучи індивідуальною сполукою, ці речовини здатні іммобілізувати сполуки як неорганічної, так і органічної природи, проявляючи властивості хелатних лігандів і вступаючи у процеси комплексоутворення. Будучи біологічно активними сполуками, гумінові речовини, при специфічній у кожному конкретному випадку обробці, можуть бути джерелом нових різноманітних біологічно активних речовин [6, 7]. Важливою, на думку науковців, властивістю ГР є їх байдужість до процесів, які відбуваються і знаходять в нормі, й ефективна корегуюча дія при будь-яких відхиленнях в організмі. Вони забезпечують сталість гомеостазу біосистеми на тканинному, клітинному та субклітинному рівнях, сприяючи відновленню фізіологічних функцій при патологічних станах і в екстремальних ситуаціях [8, 9, 10].

Гумінові речовини поділяються на три головні фракції: гуміни, гумінові кислоти та фульвокислоти. Даний поділ умовний і оснований на розчинності кожної фракції у воді і відрегульований за різним значенням кислотності. Обробка гумінових кислот лугами переводить їх у водорозчинні солі – гумати натрію або калію. Кожна функціональна група фрагмента молекули гумінової кислоти виконує свою безпосередню роль, а таких груп дуже багато, тому дія гуматів на воду, ґрунт і всі стадії росту рослин багатогранна [11, 12].

Гумінові кислоти – природні органічні сполуки, що утворюються в процесі гуміфікації продуктів рослинного, тваринного і мікробного походження. Основна їх частина стійка до біохімічного розщеплення, тому накопичується в ґрунті, біогумусі, сапропелях, торфі, бурому вугіллі. З даних джерел вони можуть бути виділені розчинами лугів у вигляді розчинних солей – гуматів [13].

Гумінові речовини виконують п'ять найважливіших функцій у біосфері: акумулятивну, транспортну, регуляторну, протекторну і фізіологічну. Їх сукупність дозволяє досить повно зрозуміти екологічну роль гумінових речовин [14]. Акумулятивна полягає в накопиченні хімічних елементів і енергії, необхідних живим організмам. Транспортна характеризується формуванням

геохімічних потоків органічних та мінеральних речовин за рахунок утворення стійких, але порівняно легкокорозчинних комплексних сполук ГР з катіонами металів і гідроксидами. Регулятивна функція включає регулювання теплового режиму ґрунтів та атмосфери, вплив на кислотно-основні та окисно-відновні режими, формування ґрунтової структури і водно-фізичних властивостей ґрунтів, регулювання реакцій іонного обміну між твердими і рідкими фазами, умовами харчування живих організмів шляхом зміни розчинності мінеральних компонентів. Протекторна пов'язує важко дисоціюючі або малорухливі з'єднання токсичних і радіоактивних елементів, та сполук, що негативно впливають на екологічну ситуацію в навколишньому середовищі. І остання фізіологічна функція полягає в тому, що ГК та їх солі, можуть стимулювати проростання насіння, активізувати дихання рослин, підвищувати продуктивність великої рогатої худоби, птиці. Навіть деякі препарати гуматів підвищують стійкість організмів до різного роду запальних процесів та стримують розвиток злоякісних пухлин.

1.2 Хімічна структура гумінових речовин

За хімічною структурою гумінові речовини – високомолекулярні конденсовані ароматичні сполуки, в яких встановлено наявність фенольних гідроксилів, карбоксильних, карбонільних і ацетогруп, простих ефірних зв'язків та ін [15].

Про спосіб виділення гумінової кислоти з торфу у свій час писав ще хімік Ф. Ахард. І цей спосіб застосовують практично і зараз для виділення гумінових речовин з будь-яких природних тіл. Реакції вилучення гуматів зводяться до наступних простих рівнянь:



де: П – ґрунт або інше природне утворення, що містить гумінові речовини; ГК – радикал гумінової кислоти; ФК – фульвокислоти, ГМК – гіматомеланової кислоти.

Якщо до отриманого лужного екстракту додати будь-яку кислоту до рН 1-2, то випаде осад гумінової і гіматомеланової кислот, а фульвокислоти залишаться в розчині.

Осади гумінової і гіматомеланової кислот легко відділяються, їх висушують і отримують темно-бурий або майже чорний порошок. Щоб у чистому вигляді отримати ФК, кислий розчин пропускають через активоване вугілля, промивають водою і ацетоном, потім знову розчиняють адсорбовані кислоти розчином лугу. Після аналізу або пропускання через Н-катионіт і висушування отримують темно-червоні голчасті (але не кристалічні) фульвокислоти. Схема в цілому звичайна, хоча в багатьох випадках її ускладнюють, щоб отримати не тільки сумарні кількості гумінових речовин, але і їх фракції, що розрізняються за характером зв'язків з Ca^{2+} , Fe^{3+} , алюмосиликатами [16].

З природного тіла повністю витягти всі гумінові речовини не вдається жодним із методів. Залишена нерозчинна частина ГР називається гуміни; властивості яких дуже схожа на властивості гумінових кислот. Добре вивчено вміст різних хімічних елементів у цих речовинах. Зміст вуглецю в масових частках коливається від 40 до 60 % залежно від походження і джерела гумінових речовин. Азот є присутнім завжди, що було доведено ще в середині минулого століття російським вченим Р. Германном, проте його усього 3-5 %. Водню зазвичай міститься 3-6 %, а кисню – 33-37 %. Обов'язковими елементами є сірка – до 0,7-1,2 % і фосфор до 0,5 %, а також присутні деякі метали [17].

Склад природних гумінових речовин нестабільний. Найважливіша особливість їх – це різноманітність у природі, про що можна судити не тільки за елементарним складом, але і за набором функціональних груп та інших властивостей [18].

Будь-які гумінові речовини містять широкий набір функціональних груп, адже вони поліфункціональні. Їх молекули мають карбоксильні групи- COOH , фенольні- OH , хінони $=\text{C}=\text{O}$, аміногрупи- NH_2 та ін. Їх кількість, по-перше, велика, по-друге, вони розподілені нерівномірно по молекулам різного розміру, і навіть молекули одного розміру можуть відрізнятися за змістом функціональних груп. Молекули ГР розрізняються за кількістю, що входять до їх складу залишків амінокислот (всього їх 17-20), за кількістю вуглеводних залишків і характеру їхнього розташування. Щоб мати чітке уявлення про побудову молекул гумінових речовин, необхідно визначати, з яких фрагментів вони побудовані і що є в їх основі. Для цього дроблять великі молекули на складові частини за двома способами:

- 1) відносно м'який – гідроліз розчинами кислот або лугів;
- 2) жорсткий – окислення гумінових речовин розчинами марганцевокислого калію чи окисом міді.

При гідролізі в розчин переходять, відокремившись від молекули гумінових речовин, низькомолекулярні фрагменти, аміноцукри і моносахариди. Амінокислот буває від 17 до 22, всі вони альфа-амінокислоти, ті ж, що є в рослинах, бактеріальній плазмі, причому приблизно в тих же співвідношеннях [19].

У складі амінокислот (у порядку убутання) найчастіше зустрічаються аспарагінова та глютамінова кислота, гліцин, аланін, валін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, пролін, серин, треонін, метіонін, тирозин, цистин, лізин, гістидин, аргінін. Масова частка амінокислот в гумінових речовинах становить від 6 до 10 %. У числі моносахаридів у складі гідролізатів гумінових речовин ідентифіковані глюкоза, галактоза, маноза, ксилоза, арабіноза, рибоза, рамноза, фукоза, фруктоза та ін. Всього вони можуть становити до 25 % маси ГР, а в складі моносахаридів на частку глюкози припадає до 20 %.

Всі гумінові речовини можна вважати високомолекулярними сполуками, хоча полеміка про розміри молекулярних мас триває і зараз. Історично в цьому відношенні виявляються кілька етапів. На ранніх етапах гумінових кислот

приписували низькі і постійні величини молекулярних мас. Проте 80-90 років тому їх вважали рівними 1400 атомних одиниць маси, потім постала думка, що гумінові речовини полідисперсні, тому до них і не застосовуються поняття молекулярних мас. Після розвитку хімії високомолекулярних сполук і появи нової аналітичної техніки стали вважати, що молекулярна маса фульвокислот близька до 10-15 тис. атомних одиниць маси, а гумінових кислот – від 20-30 тис. до 100-150 тис. [20].

Точних молекулярних формул для будь-яких гумінових речовин не існує, всі надані варіанти мають характер схем, вони гіпотетичні, оскільки враховують тільки склад з'єднань і деякі їх властивості, тоді як розташування атомів і атомних груп залишається при цьому невідомим. Проте, спроб складання молекулярних формул гумінових речовин в історії науки було доволі багато: зараз налічується не один десяток таких формул, частина яких має характер блок-схем, а частина відображає більш-менш реально склад і властивості гумінових кислот. Негативні результати при спробах складання структурних формул гумінових речовин пояснюються тим, що вони не утворюють кристалів, мають змінний склад і полідисперсні навіть у найбільш однорідних препаратах. Отримати мономолекулярні фракції гумінових речовин поки не вдалося жодному вченому. Тому до них виявилися непридатними ті методи і прийоми, які зазвичай використовують для створення формул природних і високомолекулярних біоорганічних молекул [21].

З огляду на складність будови, особливо широкий спектр взаємодій, в які можуть вступати гумінові речовини а, саме, їх найбільш реакційно здатна частина – гумусові кислоти. Наявність таких груп як карбоксильна, гідроксильна, карбонильна в поєднанні з присутністю ароматичних структур забезпечують здатність ГК вступати в іонні і донорно-акцепторні взаємодії, утворювати водородні зв'язки, активно брати участь в сорбційних процесах. Так, гумусові кислоти добре зв'язують воду, здатні до іонного обміну, утворюють комплекси з металами і аддукти з різними класами органічних сполук [22].

1.3 Застосування гумінових речовин в рослинництві та тваринництві

Гумінові речовини використовуються у більшості галузях народного господарства. У рослинництві – як стимулятор росту, що сприяє підвищенню урожайності на 15-20 % сільгоспкультур, покращення якості та зменшенні виробничих витрат. У тваринництві застосовують гумати з метою збільшення продуктивності тварин. В екології також велика увага приділяється їм, адже ці речовини використовують при рекультивації техногенно-забруднених ґрунтів, очищенні стічних вод тощо. Навіть у нафто- й газодобувній галузях гумати знайшли своє призначення – їх застосовують при бурових роботах, де препарати позитивно впливають на закріплення стінок свердловин, а також відновлюють екологічні параметри ґрунту й води в місцях проведення робіт [23].

Як відомо, гумус – основа родючості ґрунту, збагачена біологічно активними речовинами, так званими гуміновими кислотами та їх солями – гуматами. Технологія виробництва гумінових добрив унікальна і звичайна одночасно. Вона дає можливість витягнути з природної сировини цілий комплекс біологічно активних речовин, макро- і мікроелементи, які потім забезпечують якість та ефективність препарату. До даних природних субстратів відносяться буре вугілля, торф, перепрілий гній тощо.

Гумінові речовини виступають і як джерело елементів живлення, стимуляторами росту, ферментами, вітамінами та багатьма іншими біологічно активними речовин, необхідними для росту і розвитку рослин, а також для посилення їх захисних функцій до дії несприятливих шкідливих чинників [24].

Гумінові добрива, яких розрізняють як натрієві, калієві і кальцієві, власне, це натуральні регулятори росту і розвитку рослин.

У сільському господарстві вони використовуються на овочах, технічних, зернових та плодоягідних культурах, газонних і лугових травах, відкритому і закритому ґрунті і у різних ґрунтово-кліматичних умовах з метою стимулювання проростання насіння, утворенні й подальшому розвитку коріння та надземної

маси рослин, пришвидшення термінів дозрівання плодів, покращення їх якості та продукції тощо. Гумати застосовуються наступним чином: перед посадкою відбувається замочування у розчині насіння, розсади, кореневищ саджанців, бульб. Крім того, періодичний полив рослин, обприскування рослин, а також внесення у ґрунт.

Основну роль при виборі гумінових добрив відіграють такі чинники, як оптимальна та доступна ціна, сумісність дії з пестицидами, зменшення норм витрати добрив при їх одночасному внесенні з гуміновими речовинами, висока ефективність результатів при застосуванні невеликих доз препаратів, якісне збереження урожаю, зменшення кислотності й засоленості ґрунту, зв'язуючи при цьому важкі метали, радіонукліди, залишки пестицидів у ґрунті, підвищення стійкості рослин до несприятливих факторів навколишнього середовища (засухи, надмірної вологи, заморозків), захист рослин від бактеріальних та грибкових захворювань і наближення до стандартів та нормативів вирощування екологічно чистої продукції.

Природні ГР регулюють процеси росту рослин, поліпшують фізико-хімічні властивості ґрунту, активізують мікроорганізми, впливають на міграцію поживних речовин, при цьому, стимулюючи дихання, синтез білків і вуглеводнів, ферментативну активність, активно використовуються в рослинництві та ветеринарній практиці [25].

Гумінові речовини – це незамінні помічники у відновленні ґрунту і очищення його від токсинів. Вони добре діють на всі живі організми, підвищуючи опірність до хвороб.

Гумінові речовини ще раніше використовували в якості лікування, бо містяться вони у великій кількості в торфі (торфолікування), сапропелю (донні відкладення озер), муміє. Особливі властивості ГР визначають їх широке використання в різних областях промисловості і сільському господарстві. Так, здатність гумінових речовин зв'язувати іони металів і органічні сполуки дозволяє використовувати їх як ліганди при виробництві мікродобрив і кормових добавок,

що містять мікроелементи; а також детоксикуючих агентів на забруднених токсичними речовинами територіях [26].

Використання гуматів, як показує практика, призводить до екологічного оздоровлення і детоксикації забруднених земель. Вони здатні зв'язувати радіонукліди, токсичні речовини і важкі метали, що знаходяться в ґрунті, в нерозчинні і не засвоювані рослинами з'єднання. Крім того, підвищуються газопроникність і показники вологозатримання, знижується ерозія ґрунту.

Використання ГР дозволяє помітно підвищити погодно-кліматичну стійкість і врожайність рослин. А, особливо їх застосування помітно підвищує міру засвоєння рослинами мінеральних добрив. Це дозволяє на 20-40 % знизити витрату добрив, що вносяться в ґрунт, що також позитивно впливає на економічність та доцільність використання гумінових речовин [27].

Застосування гумінових препаратів сприяє: підвищенню врожаю сільськогосподарських культур; збільшенню схожості й енергії проростання насіння; посиленню коренеутворення й обміну речовин у рослинах, поглинанню і засвоєнню елементів мінерального живлення; поліпшенню приживання розсади і рослин при їх пересаджуванні; посиленню активності нітратредуктази і, як наслідок, збільшенню опірності рослин хворобам, приморозкам і посусі.

Гумінові добрива проявляють захисні властивості: радіозахист, захист від фітотоксичної дії гербіцидів, адсорбційні властивості по відношенню до шкідливих домішок і пестицидів в ґрунті.

Результати досліджень більшості авторів вказують на те, що найкращий ефект дії гумінових речовин як стимуляторів росту рослин та удосконалення ґрунтогенезу відбувається при наявності сполук кальцію. Тобто для підвищення стійкості біоекологічної системи ґрунту доцільно своєчасно вводити гуміново-мінеральний комплекс з домішками саме сполук кальцію. Проте, за рідким винятком, мінеральні добрива є фізіологічно кислими, що негативно впливає на активність гумінових речовин, а наявність кальцію суттєво зменшує кислотність ґрунту. Отже, впливає, що гуміново-мінеральний комплекс повинен включати, окрім комплексу мінеральних поживних і гумінових речовин, сполуки кальцію,

а в разі потреби і інші мікроелементи, співвідношення яких визначається еколого-кліматичними умовами регіону їх використання. Тому необхідно обґрунтувати спосіб одержання комплексних гуміново-мінеральних добрив та провести декілька експериментальних досліджень щодо визначення технологічних умов його здійснення [28].

Прояв біологічної активності як природних ГР, так і їх промислових препаратів спостерігається не тільки відносно вищих рослин; це явище значною мірою універсальне і для живих організмів. Незважаючи на вільне використання таких препаратів у рослинництві та ветеринарії, механізми впливу гумінових речовин на організм тварин, яких використовують у преклінічних дослідженнях із метою впровадження та вдосконалення нових лікарських засобів у терапевтичну практику лікування хвороб у людей, практично не вивчені. Вважають встановленим той факт, що стимулюючий вплив гумінові речовини дають за певних, досить низьких концентрацій, а за вищих концентрацій проявляється інгібування біологічної активності організмів. Така реакція властива для більшості біологічно активних речовин [29].

Гумінові речовини в невеликих кількостях діють як специфічні сенсibiliзуючі агенти, що збільшують проникність плазми, що призводить до збільшеного забору поживних речовин рослинами. Останнім часом публікується та патентується багато робіт, в яких продемонстровано позитивний ефект ГР на рослини. Цей вплив добре помітно як у зовнішньому вигляді рослин, так і у внутрішніх біохімічних процесах.

Особливої уваги заслуговують адаптогенні властивості гумінових речовин, обумовлені їх здатністю зв'язувати радіонукліди, іони важких металів, руйнувати пестициди після закінчення терміну їх дії, полегшувати і прискорювати процес детоксикації культурних рослин [30].

Досить нове та цікаве застосування гумінових речовин – це рекультивация забруднених ґрунтів і вод. Їх намагаються використовувати для очищення та рекультивации територій, забруднених органічними речовинами і нафтопродуктами, а особливо важкими металами. Уже розроблені і

використовуються щільні сорбенти на основі ГР. Гумінові речовини в ґрунті і торфі знаходяться в малоактивній формі, адже мають обширний набір функціональних груп і реагують з мінеральними компонентами. Однак під час виробництва гумінових препаратів функціональні групи розблоковуються і гумінові кислоти переходять в активну форму. При використанні гуматів як регуляторів росту рослин фізіологічно активними є не гумінові кислоти, а їх солі з одновалентними лужними металами та амонієм. Це обґрунтовується тим, що гумінові кислоти не розчинні у воді і не можуть поглинатися рослинами. Поряд зі стимулюючим впливом на рослини вони значно інтенсифікують діяльність різних груп мікроорганізмів у ґрунті, в тому числі тих, які беруть участь у мінералізації органічних речовин [31].

Ефективність більшості препаратів залежить від виду та якості сировини, способу їх отримання, препаративної форми і фізіологічного стану рослини. Вплив їх на рослини, як і всіх регуляторів росту, виявляється в разі відхилення параметрів чинників середовища від оптимальних значень, і вони найефективніші при застосуванні на ранніх стадіях розвитку рослини. На додаток, потрібно враховувати умови вуглецевого і мінерального живлення рослин, а також чітко дотримуватися строків і доз препаратів.

Наголошується, що при вільній кількості пропозицій гумінових добрив на ринку багаточисельними компаніями, практично відсутні дані по порівняльному аналізу ефективності добрив з леонардита, торфу, сапропелів.

Поряд зі зв'язуючими властивостями, гумінові речовини мають яскраво виражені поверхнево-активні властивості, що дозволяє застосовувати їх як агентів, які збільшують розчинність гідрофобних органічних речовин, включаючи і нафтопродукти. Тобто використовувати препарати гумінових речовин для видалення ароматичних вуглеводнів нафти із забруднених водоносних горизонтів [32].

Гумінові речовини входять до складу бурових розчинів, а також служать основою розчинів, призначених для промивання водоносних горизонтів, забруднених ароматичними речовинами. Також для цих цілей використовують

синтетичні ПАР, але, на відміну від них, ГР абсолютно безпечні для природи. Одне з найбільш корисних властивостей гумінових речовин – це здатність зв'язувати токсичні речовини, що сьогодні дуже важливо. Забруднення навколишнього середовища, особливо у великих промислових міст, дуже велике.

Здатність та своєрідна властивість гумінових кислот пов'язувати різноманітні токсиканти добре відома. Однак в численних дослідженнях захисна дія гумінових кислот описується реакціями, що протікають тільки в розчині або на кордонах розділу фаз.

Передбачається, що в реальних ґрунтових умовах клітинні стінки мікроорганізмів і коренів вищих рослин постійно просякнуті гуміновими речовинами, і саме ці фільтри є важливим бар'єром на шляху надходження токсикантів всередину живої клітини [33].

Гумінові речовини можуть виступати в якості антидотів для різних забруднювачів, в тому числі і для важких металів. Вони здатні зв'язувати іони металів і переводити їх в нерухомі форми, а також до детоксикації органічних токсичних речовин. Виконують протекторну функцію – зв'язують в комплекси іони металів [34]. Більшою мірою комплексоутворення виявляється в тому випадку, якщо в молекулах поряд з карбоксигрупою знаходяться електронодонорні групи $-\text{OH}$, $>\text{C}=\text{O}$, $-\text{COOH}$, $-\text{SH}$, $>\text{NH}$. Зв'язування гумінових речовин з токсичними речовинами призводить до зниження їх концентрації в розчиненій формі, а, отже, і до зниження токсичності цих речовин по відношенню до різних організмів [35, 36].

В науковій статті Е.В. Акатової виявлено, що детоксикуючий ефект гумінових речовин підпорядкований їх концентрації в розчині і виявляється в скріпленні іонів важких металів в нетоксичний комплекс в розчині при низьких концентраціях ГР або з адсорбованими молекулами гумінових на поверхні клітин мікроорганізмів. Коефіцієнти і константи детоксикації гумінових речовин можна застосовувати в якості прогнозованих ознак при встановленні кількісних залежностей між будовою гумінових речовин і їх зв'язуючими і детоксикуючими властивостями, оцінкою ефективності використання аналізованих ГР в якості

природних сорбентів для поглинання іонів важких металів. Коефіцієнт детоксикації відображає зміну рівня токсичності речовини в присутності гумінових речовин в порівнянні з токсичністю в їх відсутності з урахуванням зміни тест-відгуку під дією власного впливу гумінових речовин [37].

Детоксикуюча дія гуматів по відношенню до іонів важких металів пов'язана з наявністю в гумінових речовинах вільного набору функціональних груп (карбоксільних, гідроксильних, карбонільних і ін.), відповідальних за зв'язування іонів металів з утворенням нерозчинних комплексів [38].

Загальним результатом описаних взаємодій гумінових речовин з живими клітинами є вивільнення енергії, яка замість того, щоб витрачатися на компенсацію несприятливих факторів зовнішнього середовища, може бути витрачена клітиною на зростання і розмноження, що в кінцевому результаті призводить до посилення конкурентоспроможності даного організму, як на рівні популяції, так і при міжпопуляційних відносинах [39]. Вірогідно, найцікавішим та найвдалим в біологічній дії гумінових речовин є дослідження можливості передачі гумінових речовин або продуктів їх трансформації по трофічних ланцюгах або від батьків потомству і закріплення набутих під дією ГР ознак в ДНК. Мова, в кінцевому підсумку, йде про еволюційну необхідність та значимість гумінових речовин в біосфері.

1.4 Використання мікроорганізмами гумінових речовин

За участю мікроорганізмів утворюються абсолютно нові, відмінні від вихідних, органічні кислоти – гумусові, або перегнійні, а також їх солі, що часто містять азот. Також обґрунтовано, що гумінові кислоти здатні ефективно інтенсифікувати обмінні процеси в живому організмі. Доведено, що кислоти низької молекулярної ваги – фульвові кислоти, інкубують протеазну активність, що становить інтерес для зниження метастатичної активності ракових

кліток [40]. Якщо говорити про механізм перенесення молекул гумінових речовин всередину клітини, то можна запропонувати шлях надходження гумінових речовин в клітини, ґрунтуючись на теорії перенесення і внутрішньоклітинного перетравлення великих молекул і частинок, запропонованої Крістіаном де Дювом (1964 р.). Цей шлях перенесення виключає безпосередній контакт молекул гумінових речовин з компонентами клітини. Захоплення клітинами великих молекул гумінових речовин здійснюється в результаті ендоцитозу, подальше їх перетравлення відбувається в травних вакуолях, що утворюються після злиття ендоцитарних бульбашок з лізосомами. Всі основні класи біополімерів, що входять в периферичну частину молекул ГР або нековалентно захоплені ними (білки, полісахариди, нуклеїнові кислоти, ліпіди) розкладаються ферментами, що містяться в лізосомах. Утворені в результаті ферментативного гідролізу амінокислоти, цукри, нуклеотиди дифундують в цитоплазму і включаються в метаболічні процеси. Неперетравлені залишки гумінових речовин виводяться з клітини в ході екзоцитозу. Саме процесом часткового внутрішньоклітинного перетравлення пояснюються позитивні результати безлічі наукових експериментів по виявленню мічених гумінових кислот всередині клітини [41].

Біологічна дія гумінових речовин на живі організми зумовлена тим, що інтактні молекули гумінових речовин і залишки їх внутрішньоклітинного перетравлення локалізуються в клітинних стінках або в шарі, що безпосередньо примикає до цитоплазматичної мембрани. Таким чином, на поверхні живої клітини виникає щось на кшталт активного ажурного фільтра, здатного виконувати особливі функції: перехоплювати іони важких металів, пов'язуючи їх в стійкі комплекси хелатного типу; перехоплювати молекули ксенобіотиків; зв'язувати вільні радикали, що утворюються в плазматичній мембрані в результаті перекисного окислення ліпідів. Продукти внутрішньоклітинного перетравлення гумінових речовин, позбавлені периферичних компонентів, можуть виконувати ці функції навіть більш ефективно, ніж інтактні молекули,

так як зникають перешкоди для контакту іонів і вільних радикалів з відповідними активними центрами молекул гумінових речовин [42].

Гумінові речовини віддають живим організмам необхідні їм елементи поживних речовин поступово, в міру їх споживання, зберігаючи необхідний запас цих елементів для наступних поколінь. Цим вони дуже відрізняються від багатьох мінеральних сполук, які можуть постачати рослини елементами живлення, але представлені, як правило, легкорозчинними речовинами, які швидко витрачаються або вимиваються з ґрунту. У той самий час частина мінеральних елементів входить в кристалічну решітку алюмосилікатів, вони недоступні живим організмам і тільки після руйнування мінералів споживаються рослинами. Залежно від ступеня дисоціації кислотних і основних груп макромолекули ГР можуть мати різний конформаційний стан. Дисоціація карбоксильних груп у кислому середовищі визначає електронегативність навіть їх окремих ланок, що сприяє створенню пухких надмолекулярних структур у гумінових речовинах. Структури останнього типу найбільш виражені для гумінових речовин низинного торфу, де дисоціацію кислих груп практично пригнічено катіонами, а міжмолекулярні взаємодії відбуваються не тільки за рахунок водневих зв'язків і міжмолекулярних сил, як у гумінових сполуках верхівкового торфу, а й у результаті взаємодії іоногенних функціональних груп через катіони багатовалентних металів [43].

Механізм дії гумінових речовин на живі організми вивчено скупенько. Встановлено вплив гумінових кислот на біоенергетичну систему рослинного організму, а також їх фітогормональний ефект. Підвищення ж енергетичних запасів організму сприяє активізації синтезу білка, який є основним будівельним матеріалом. Під впливом гумінових препаратів змінюється вміст деяких елементів живлення в клітинах рослин, що сприяє активізації більшості ферментативних систем. Ці зміни і створюють умови для підвищення стійкості рослин в екстремальних режимах та їх фотосинтетичної здатності [44].

1.5 Методи вилучення гумінових речовин із торфу та їх ідентифікація

Сьогодні існує безліч різних методів виділення гумінових речовин, найбільш поширеними є методи витягання розчинами лугів і лужних солей, менш відомими, – способи витягання органічними розчинниками. Тобто вживання бромистого ацетилу, водного діоксану, фурфуролу, амінів і аміноспиртів жирного ряду. Вони досить мало вивчені і засновані лише на допущенні, що вся органічна речовина щільного торфу, за винятком гумінових кислот, розчиняється в бромистому ацетилі [45]. Зумовлюється, що виділені цими методами гумінові речовини є чистішими і менш зміненими, чим при виділенні лужними розчинами. Проте дослідження відношення гумінових речовин до перерахованих розчинників показує, що вони лише частково розчиняються в діоксані, ацетоні. Тому вживання органічних розчинників не може бути рекомендоване для витягання гумінових речовин з торфу.

Єдиною реальною ознакою, використовуваною в практичній діяльності, вважається здатність гумінових речовин розчинятися в лугах і утворювати осад при підкисленні середовища.

Класичним, звичайним та основним способом вилучення гумінових речовин є лужна реакція розчинами аміаку або гідроксидами калію чи натрію. Дана обробка перетворює їх на водорозчинні солі – гумати калію або натрію з високою біологічною активністю. Суттєвим недоліком цього методу вважають низький вихід гумінових речовин, який можна порівняти з виходом вільних гумінових кислот з вихідної сировини [46].

Альтернативний та зручний спосіб передбачає подрібнення торфу з лугом, в результаті чого отримують щільний, розчинений у воді гумат калію або натрію. Незначним недоліком є отримання так званих «баластних» гуматів з високим вмістом нерозчинного залишку [47].

Склад функціональних груп і структура молекулярних фрагментів гумінових кислот підпорядкована способу їх вилучення.

Для досягнення повноти екстракції гумінових речовин необхідне подрібнення структури торфу. Механічна обробка матеріала з хімічними реагентами дозволяє отримати композити з розвиненою поверхнею розподілу фаз.

Однак, механохімічний вплив полягає не лише в збільшенні ефективної поверхні компонентів суші та зменшенні дифузних ускладнень, але й в хімічному перетворенні цільових речовин у форми, які більш розчинні у воді та інших різноманітних розчинниках [48].

Найперспективнішим та сучасним з фізичних методів впливу на речовини для інтенсифікації технологічних процесів є метод, заснований на використанні механічних коливань ультразвукового діапазону, які найбільш успішно використовуються в процесах, пов'язаних з рідкими станами реагентів. Висока ефективність ультразвукових впливів на різні технологічні процеси підтверджена численними науковими дослідженнями і досвідом більш ніж тридцятирічного застосування на ряді підприємств різних галузей промисловості. Дослідженнями в цій області займалися В. Е. Накоряков, А. П. Бурдуков, А. М. Бондарев, М. А. Фоміна та ін. [49].

В літературних джерел обґрунтовано, що інтенсивна механічна активація торфу супроводжується зміною виходу, складу і властивостям цих компонентів. Не дивлячись на великий прогрес в області механо-хімічної переробки природних органічних речовин із-за складності структури ГР, потрібне більш широке дослідження за допомогою комплексу фізико-хімічних методів.

1.6 Бактеріальна культура *Serratia marcescens*

Цікавість до вивчення серацій викликала можливість утворення ними червоного пігменту. У стародавні часи появу «кривавих» плям на різних

продуктах, особливо на освяченій їжі, вважали диявольською маною, що нерідко ставало причиною народних хвилювань.

Бактерії вперше дослідив і виділив італійський бактеріолог Б. Бізіо і назвав їх *Serratia marcescens* на честь лоцмана Серафіно Сerratі того, що проводив судна по річці Арно. Рід *Serratia* є одним із найстаріших представників родини ентеробактерій. Виділено 10 видів серацій, але в рутинних баклабораторіях виділяють тільки три: *S. marcescens*, *S. rubidaea*, *S. liquefaciens* [50]. Раніше їх вважали сапрофітами і тільки в останній час стали виділяти при шпитальних бактерієміях, пневмоніях, ентеритах, інфекціях сечовивідних шляхів, нагноєннях хірургічних ран і ураженнях шкіри. Серації часто передаються через руки медперсоналу. Найчастіше вони проникають до організму через постійні катетери, інтубаційні пристрої, а також з розчинами для різних ін'єкцій.

Досліджуваний матеріал у хворих беруть залежно від локалізації патологічних процесів. Частіше за все це кров, гній, сеча, випорожнення, жовч, мокротиння. В мазках серації мають вигляд прямих грамнегативних паличок, окремі штами мають капсулу.

Мікробіологічна діагностика основана на виділенні чистих культур серацій і визначенні їх видової належності за допомогою культуральних властивостей і біохімічних тестів. Посіви проводять на кров'яний агар, диференційне середовище Ендо, Плоскірева і особливо МПА з ДНК-азою, толуїдиновим синім іцефалотином. На кров'яному агарі *S. marcescens* і *S. rubidaea* утворюють прозорі сірувато-білі колонії, гладкі або дрібнозернисті. Через 24-48 год при кімнатній температурі вони вироблять червоний пігмент. На диференційних середовищах колонії безбарвні, гладенькі, трохи випуклі. На агарі з ДНК-азою і толуїдиновим синім серації утворюють колонії з характерною синьою облямівкою, у той час як колонії інших ентеробактерій його не мають зовсім [51].

Ідентифікацію виділених культур проводять виключно за допомогою біохімічних тестів. Серації постійно ферментують гліцерин, мальтозу, маніт, саліцин, сахарозу і сорбіт. Такі спирти і вуглеводи як адоніт, інозит, ксилозу і

целобіозу вони розщеплюють варіабельно, ростуть на цитратних середовищах і дають позитивну реакцію Фогес-Проскауера.

Проте, до останнього часу не налагоджено промисловий випуск діагностичних сироваток, відсутня антигенно-діагностична схема, що не дозволяє проводити серологічну ідентифікацію серацій [52].

Факультативні анаероби, майже всі штами можуть рости при температурі від 10 до 36°C. Володіють вираженою каталазою.

Різні штами продукують два різні пігменти: продигіозин і піримін. Продигіозин не дифундує в середовище, нерозчинний у воді, продукується *S. marcescens* і більшістю штамів *S. plymuthica*, *S. rubidaea*, пігментуючи колонії в червоний колір різної інтенсивності. Колір залежить від умов культивування. Для виявлення пігменту бактерій краще культивувати на гліцерин-пептонному агарі при 20–35°C. Піримін розчинний у воді, дифундує в середовище. На кров'яному агарі при 37°C *S. marcescens* утворює сірувато-білі прозорі S-колонії 1–2мм у діаметрі, які можуть бути гладкими або дрібнозернистими. При кімнатній температурі через 24-48 год колонії стають червоними. На скошеному агарі бактерії утворюють гладкий білий наліт. Оскільки більшість ізолятів не ферментує лактозу, то на середовищі Плоскірева вони утворюють безбарвні колонії.

В даний час антигенно-діагностична схема диференціації цих бактерій включає 21 O-антиген і 25 джгутикових H-антигенів. Деякі з них можуть давати перехресні реакції між собою (O2 і O3, O6 і O7). Резистентність до фенолу, 1 % гідрохлориду натрію, 70 % етанолу, формальдегіду, глутаральдегіду та хлоргексидину – ефективні проти *Citrobacter*. Бактерії роду *Citrobacter* інактивуються під дією ультрафіолету, гамавипромінювання, нагріванням при 121°C протягом 20 хв і сухим жаром (165–170°C протягом 2 год) [53].

Serratia зустрічається в кишечнику здорових людей, тварин, в ґрунті, воді, повітрі, на рослинах, їх виділяють з випорожнень комах і гризунів.

У літературі є докази про те, що *S. marcescens* може викликати до 10% внутрішньо лікарняних бактеріємії і пневмоній, 5% інфекцій сечовивідних

шляхів, хірургічних ран і гнійничкових уражень шкіри. Більш за все серації проникають до організму через негігієнічні катетери, інтубаційні пристрої, препарати і розчини для внутрішньовенних інфузій [54].

Утворення пігментів мікроорганізмами має особливе та цінне фізіологічне значення. Вважають, що пігменти виконують у процесі дихання функцію акцептора водню, забезпечують захист мікроорганізмів від природного ультрафіолетового випромінювання, беруть участь у реакціях синтезу, мають антибіотичну дію. Але остаточно функціональна роль пігментів у бактерій на сьогоднішній день до кінця не з'ясована. Здатність до утворення пігментів у мікроорганізмів детермінована генетично і тому може використовуватися як ідентифікаційна ознака.

Продигіозин – один із кількох вторинних бактеріальних метаболітів, має незвичайну структуру у якій метоксибіпірольний фрагмент включений у дипірометиленову структуру. Яскраво червоний пігмент продигіозин, який синтезується ентеробактеріями *Serratia marcescens*, являє собою лінійний трипірол (пірол, 3 метоксипірол, 2 метил 3 амільпірол) [55]. Результати багатьох наукових досліджень показують, що продигіозин діє як ауто окиснений акцептор, тим самим підтверджується його можлива участь у диханні мікроорганізмів. В утворенні продигіозину беруть участь багато амінокислот. Допускають, що накопичення амінокислот у середовищі в період стаціонарної фази призводить до більш швидкої появи літичних процесів. Це припущення підтверджують спостереження, що пігментований штам має більш пізній автолітичний процес, ніж безпігментний. Утворення пігменту в цьому випадку можна спостерігати як адаптивний процес, викликаний зміною фізіологічного стану клітини. Інша точка зору відносно біологічного значення пірилідіпірилметенових пігментів заснована на їх здатності пригнічувати в лабораторних умовах ріст мікроорганізмів. Великий інтерес становить спостереження, що екзогенний продигіозин є потужним сенсibilізатором для більшості різних мікроорганізмів [56].

Про функції пігментів бактерій наразі немає єдиної та точної думки. Так, про роль продигіозину культури *S. marcescens* існує декілька припущень: участь продигіозину в диханні клітини, на що вказує подібність його хімічної структури з цитохромами та гемоглобіном (наявність пірольних кілець, халатні комплекси із залізом, які синтезуються тільки в аеробних умовах); продигіозин у лабораторних умовах здатний пригнічувати ріст інших мікроорганізмів; може виконувати роль ауто окислюючого електронного акцептора (окислена жовта й відновлена червона форми); синтез продигіозину наприкінці стаціонарної фази в структурах клітинної стінки дозволяє зв'язувати амінокислоти, високі концентрації яких можуть призвести до прискорення літичних процесів [57].

Пігменти бактерій – важливий об'єкт дослідження не тільки через можливе використання їх індикаторних властивостей, але також і через нез'ясованість питання про їхнє основне функціональне призначення [58].

Існує досить багато способів, що дозволяють оцінювати інтенсивність пігментоутворення у бактерій. Наприклад, найпоширенішим в наш час є спосіб визначення інтенсивності пігментації мікроорганізмів за допомогою комп'ютерної програми Adobe Photoshop, а саме пакета програм CIE Lab. Даний спосіб був запропонований і запатентований доктором біологічних наук, професором, завідувачем кафедри загальної та прикладної екології і зоології біологічного факультету Запорізького національного університету Рильським О. Ф., у співпраці з доцентами кафедри Домбровським К. О., Гороховським Є. Ю., Жиленко А. В. Спосіб включає вирощування зразків бактерій на поживному середовищі в термостаті; фотографування культури бактерій при заданому освітленні та передачу цифрового зображення на комп'ютер; визначення відтінків для кожного первинного кольору; порівняння кольору вирощених бактерій, який відрізняється тим, що вирощування бактерій здійснюють впродовж 24-48 годин, виконують порівняння кольору вирощених бактерій, який обумовлений пігментосинтезуючою активністю, визначають зміну інтенсивності пігментоутворення у бактерій дослідного зразка в

порівнянні з контролем. Запропонований спосіб дозволяє швидко та об'єктивно здійснювати оцінку інтенсивності кольору [59].

Інший популярний спосіб, запропонований Гвоздяк П. І., Рильським О. Ф., Крупей К. С., включає відбір проб, приготування щільного поживного середовища на основі проби, вирощування бактерій на поживному середовищі та візуальне порівняння інтенсивності пігментоутворення. Спосіб передбачає порівняння інтенсивності пігменту бактерій контрольних колоній з інтенсивністю пігменту бактерій, колонії яких зазнавали впливу того чи іншого стресового чинника за чотирьохбальною системою. Даний метод простий, доступний та економічний у реалізації [60].

Наступний метод є близьким за суттю та досягнутим результатом. Він включає вирощування бактерій протягом 5-6 годин на поживному середовищі, вплив світла та обробку барвниками, фотографування та передачу зображення на комп'ютер, розкладання зображення на три первинні кольори, підрахування отриманих хроматичних даних гістограм та коло метричної характеристики і визначення відтінку для кожного первинного кольору, порівняння кольору вирощених культур бактерій, який залежить від інтенсивності нарощування біомаси колонії з попередньо накопиченими даними для ідентифікації виду бактерій, та прогнозування здатності розмноження досліджуваних бактерій. Недоліками найближчого аналогу є те, що він не дозволяє кількісно оцінювати інтенсивність пігментоутворення бактерій, тому що запропонований у цьому рішенні час культивування і нарощування біомаси колоній бактерій спрямований лише на ідентифікацію бактерій за оптичною щільністю середовища, а саме протягом 5-6годин пігмент не встигає синтезуватися, що не дозволяє досліджувати пігментосинтезуючу здатність бактерій [61].

1.7. Дослідження пігментів дріжджів

Дріжджі відносяться до одноклітинних грибів, які у зв'язку з переходом до проживання у рідких та напіврідких субстратах втратили міцеліальну будову. Налічується 1500 видів, які належать до аскоміцетів та базидіоміцетів. Вони являють собою одноклітинні нерухомі організми різної форми – шаровидні, паличковидні, овальні тощо. Непостійна форма і розмір дріжджових клітин залежить від їх виду, роду, умов культивування та складу поживного середовища [62]. Клітини дріжджів утворюють капсулу – слизистий полісахаридний чохол навколо клітини. Капсули мають найрізноманітніші функції – сприяють закріпленню клітин до поверхні субстрату, створюють міжклітинне середовище, сприяють поліпшенню постачання води в клітину [63].

Найбільше значення мають дріжджові пігменти, а саме їх використання у якості біоіндикаторів. Серед пігментів переважають червоні, помаранчеві та жовті каротиноїдні пігменти. Основною функцією пігментів є захист дріжджів від природної ультрафіолетової радіації та захист від видимого світла. Більшість пігментів мають в собі активні речовини – ферменти, вітаміни та стимулятори росту. Каротиносинтезувальні дріжджі активно застосовуються в сучасній мікробіології, біоіндикації та біотехнології [64].

1.8. Дріжджові культури *Rhodotorula mucilaginosa* та *Rhodotorula rubra*

Дріжджі роду *Rhodotorula* синтезують широкий спектр каротиноїдів, тому ці еукаріоти активно використовуються в сучасних дослідженнях. Проте більшість авторів не звертали увагу на можливість використання пігментосинтезуючих дріжджів у біоіндикаційних дослідженнях [65]. Цю велику групу пігментів широко використовують у різних галузях промисловості, в тому

числі й аквакультури для стимуляції розвитку ікри та личинок, нормалізації життєдіяльності дорослих особин гідробіонтів. Серед інших мікроорганізмів дріжджі *Rhodotorula* вирізняються швидкістю росту, властивістю засвоювати легко- та важкодоступні вуглецеві субстрати, невибагливістю до мінерального складу поживного середовища, розмноженням за низьких значень рН [66].

2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкт дослідження

Об'єктами дослідження були пігментосинтезуючі культури бактерій *Serratia marcescens* MP-141 та дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394, *Rhodotorula rubra* RA-10, надані нам із колекції музейних культур Інститутом мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

2.2 Лабораторні дослідження

Лабораторні дослідження проводилися в мікробіологічній лабораторії № 206 в період з вересня по грудень 2020 року у Запорізькому національному університеті.

У лабораторних умовах досліджували вплив гумінових речовин на динаміку росту та пігментосинтезуючу здатність бактеріальної культури *Serratia marcescens* MP-141 та дріжджових культур *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394, *Rhodotorula rubra* RA-10. Для інокуляції культур та проведення експерименту спочатку готували стерильний посуд, а саме: пробірки, чашки Петрі, колби, піпетки, шпателі. Підготовка культур для подальшого дослідження проводилася наступним чином: спочатку відсіювались музейні культури *S. marcescens* MP-141 на щільне поживне середовище МПА, а *Rh. mucilaginosa* Y-1394, *Rh. rubra* RA-10 на щільне поживне середовище Сабуро у пробірках. Далі отримували бульйонні культури, з яких методом децимальних розведень отримували суспензію клітин з оптичною щільністю $D=0,03$.

Для виявлення чистоти культур *S. marcescens* MP-141, *Rh. mucilaginosa* Y-1394 і *Rh. rubra* RA-10 застосовували метод складного забарвлення – метод Грама. Забарвлення проводили так: за допомогою бактеріологічної петлі,

прожареної в полум'ї спиртівки, наносили на середину предметного скельця, попередньо протертого спиртом для обезжирення поверхні, краплину фізіологічного розчину. Дотримуючись правил асептики, невелику кількість досліджуваного матеріалу з пробірки петлею переносили у краплину фізіологічного розчину. Рівномірно розтерали краплину на поверхні скельця. Скельце з виготовленим мазком розміщали на спеціальному штативі з двох паралельних скляних трубочок, з'єднаних шлангами і розташованих над робочою ванночкою. Препарат висушували при кімнатній температурі на повітрі та підігрівали, тримаючи скельце мазком угору в потоці теплого повітря високо над полум'ям спиртівки. Для фіксації сухий препарат декілька разів проводили через полум'я спиртівки, тримаючи скло між великим і вказівним пальцями мазком догори. Швидкість і кратність проведення препарату через полум'я регулюються відчуттям опіку в пальцях. Не можна перегрівати препарат, тому що порушується структура клітини. Фіксація виконує наступні функції: вбити мікроби, забезпечити краще прилипання мазку до скельця, зробити мазок більш сприятливим до забарвлення. На фіксований мазок розміщували шматочок фільтрувального паперу, попередньо просоченого спиртовим розчином генціанового фіолетового і вносили декілька крапель води так, щоб папірець став вологим і добре прилягав до скельця. Забарвлення проводили протягом 2 хвилин. Пінцетом знімали папірець, зливали барвник і, не промиваючи водою, наносили на препарат розчин Люголя на 1 хвилину (до почорніння препарату). Зливали розчин Люголя і оброблювали мазок 96° етиловим спиртом протягом 30 секунд (препарат погойдували). Препарат промивали водою і дофарбовували водним фуксином протягом 2 хвилин, зливаючи барвник, препарат знову промивали водою, висушували фільтрованим папірцем і мікроскопіювали [67].

2.2.1 Отримання розчину гумату натрію із перехідного торфу

Для приготування водної витяжки із торфу використовували перехідний торф, відібраний з Машанського урочища Костопільського району Рівненської області. Торф подрібнювали до розмірів приблизно 1 мм, просіювали через сито та фасували разом з NaOH в пакети з нетканного гігроскопічного матеріалу. До 1 кг торфу додавали 50 г NaOH. Пакет щільно зав'язували. Для отримання маточного розчину пакет поміщали в ємність із водопровідною кип'яченою водою, яка була охолоджена до температури 70-80°C (співвідношення вихідного матеріалу до рідини 1:20-1:25). Рідину перемішували протягом 10–15 хв шляхом віджимання пакету до появи піни коричневого кольору, потім ємність щільно закривали та запарювали протягом 2–3 год, знову ретельно перемішували рідину в ємності, пакет витягували з ємності та ретельно віджимали. Надалі розливали отриману рідину у колби місткістю по 250 см³ [68].

2.2.2 Визначення фізико-хімічних показників розчину гумату натрію

В даній роботі розчин гумату натрію порівнювали з водогінною водою, використовуючи такі параметри як температура, окисно-відновний потенціал (ОВП), водневий показник (рН), питому в'язкість та показники електропровідності.

Температуру розчинів вимірювали за допомогою лабораторного ртутного скляного термометра впродовж 5 хв у кожному розчині.

Вимірювання ОВП проводили потенціометрично, використовуючи у якості індикаторного платиновий електрод в парі з хлорсрібним електродом порівняння.

Показники рН визначали в робочих розчинах за допомогою рН-метра. Перед початком вимірювань скляний індикаторний електрод та хлорсрібний електрод порівняння промивали дистильованою водою, потім досліджуваною водою і лише після цього занурювали у пробу. Через 3 хв відмічали покази приладу.

Питому в'язкість визначали капілярним віскозиметром Оствальда, що заснований на використанні формули Пуазейля:

$$V = \frac{1}{\mu} \cdot \frac{\pi R^2}{8l} \cdot (P_1 - P_2) \cdot t \quad (2.1)$$

де, R - радіус трубки;

l - довжина;

P_1, P_2 - тиск на торцях трубки;

t - час витікання рідини.

За допомогою гумової груші, приєднаної до широкої трубки віскозиметра, воду з резервуара піднімали по капілярам так, щоб її меніск встановився трохи вище мітки «а». Знявши грушу з трубки і утримуючи віскозиметр у вертикальному положенні, дали можливість воді вільно протікати через капіляр, спостерігаючи за зниженням рівня рідини. Коли меніск проходив повз верхньої позначки «а», вмикали секундомір, і вимикали його, коли меніск проходив повз нижньої мітки «б». Таким чином вимірювали час, за який об'єм еталонної рідини протече через капіляр. Далі за формулою визначали питому в'язкість [69]. Дослід повторювали тричі, отримавши середнє значення. Капілярний віскозиметр є достатньо точним і універсальним. Цей тип віскозиметра давно та успішно застосовуються у різноманітних сферах.

Електропровідність досліджуваних розчинів проводили за допомогою кондуктометричного методу аналізу. Вимірюючи електропровідність, можна визначити вміст різних речовин та їх сполук у досліджуваних розчинах. Кондуктометрія відноситься до найпоширеніших методів дослідження розчинів і рідких систем взагалі. Широкі можливості для оперативного контролю

концентрації електролітів у розчинах відкриває використання методу прямої кондуктометрії. Суть методу полягає в тому, що електроліти в розчині дисоціюють на іони, концентрація яких визначає його електропровідність.

2.2.3 Визначення динаміки росту бульйонної культури *Serratia marcescens* MP-141 фотоелектроколориметричним методом

Для дослідження впливу гумінових речовин на динаміку росту бактерії *S. marcescens* MP-141 використовували рідке поживне середовище – МПБ. Поживне середовище – м'ясо-пептонний бульйон (МПБ) складається з пептону ферментативного, суміші амінокислот, натрію хлористого та вуглекислого.

Спосіб приготування – 15 г препарату ретельно розмішували при нагріванні в 1 л очищеної води, кип'ятили 2–3 хв, фільтрували через паперовий фільтр, розливали у стерильний посуд по 9,5 мл, стерилізували під тиском при (121 ± 1) С протягом 20 хв у автоклаві. У готовому середовищі водний показник рН складає $7,0 \pm 0,2$.

Середовище розливали по колбах. Перша колба слугувала контролем (без додавання гумінових речовин), а в наступні три вносили гумінові речовини у кількостях 1, 3 та 7 мл на 50 мл середовища МПБ. Далі додавали по 1 мл розчину суспензії культури *S. marcescens* MP-141 в кожену колбу.

Одразу для визначення динаміки росту бульйонної культури *S. marcescens* MP-141 використовували фотоелектоколориметр КФК–2, на якому визначали оптичну щільність. Контролем слугував чистий МПБ. Перший вимір робили саме після інокуляції, наступний був за 4 години і потім через кожні дві години, згідно методики. Культивування проводили в термостаті.

2.2.4 Визначення динаміки росту бульйонних культур дріжджів роду *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 та *Rh. rubra* RA-10 фотоелектроколометричним методом

Для дослідження впливу гумінових речовин на динаміку росту дріжджів роду *Rh. mucilaginosa* Y-1394, *Rh. rubra* RA-10 використовували рідке поживне середовище Сабуро.

Склад середовища Сабуро: пептон ферментативний 7 г/л, глюкоза 5,5 г/л, натрій хлорид 4 г/л, дріжджовий екстракт 0,5 г/л і бромтимоловий синій 0,04 г/л. Спосіб приготування – 25 г препарату ретельно перемішували при нагріванні в 500 мл очищеної води, кип'ятили впродовж 5 хв до повного розчинення.

Середовище розливали в колби ємністю 150 мл. Перші дві колби слугували контролем (без додавання гумінових речовин), а в наступні шість вносили гумінові речовини у кількостях 1, 3 та 7 мл на 50 мл середовища Сабуро. Далі додавали по 1 мл розчину суспензії культури *Rh. mucilaginosa* Y-1394 в перші три колби, а в наступні три суспензії культури *Rh. rubra* RA-10.

Визначення динаміки росту бульйонних культур за показниками оптичної щільності проводили з використанням фотоелектоколориметру КФК–2. Контролем слугував бульйон Сабуро без гуматів.

Вимірювання оптичної щільності проводили відразу після інокуляції, на другу і четверту добу.

2.2.5 Визначення інтенсивності росту пігментоутворення бактеріальної культури *Serratia marcescens* MP-141

Для дослідження впливу гумінових речовин на інтенсивність синтезу пігментоутворення бактерії *S. marcescens* MP-141 використовували щільне

поживне середовище – МПА. Поживне середовище – м'ясо-пептонний агар (МПА) складається з ферментативного пептону, м'ясного екстракту (1:2), натрію хлориду, глюкози та агару.

Спосіб приготування – вносили 35 г препарату в 1 дм³ очищеної води, розмішували, кип'ятили 1–2 хв до повного розплавлення агару, фільтрували через ватно-марлевий фільтр, розливали у посуд і стерилізували в автоклаві за температури $(121 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ протягом 20 хв.

Поживне середовище охолоджували до температури 45-50⁰С, розливали в стерильні чашки Петрі та вносили, в даний експеримент, зменшений об'єм гумінових речовин, а саме: 0,5 мл, 0,7 мл та 1,0 мл на 20 мл МПА. Після застигання середовище, дотримуючись правил асептики, підсушували за температури $(37 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ протягом (50 ± 10) хвилин. Далі вносили по 1 мл розчину суспензії культури *S. marcescens* MP-141 в кожну чашку. Бульйонну культуру засівали методом газону на поверхню щільного поживного середовища за допомогою шпателя Дригальського. Контролем також слугувало середовище МПА без додавання гумінових речовин.

Повторність дослідів триразова. Потім чашки розмішували до термостату для інкубації за температури 28⁰С на 3 доби. Згодом візуально оцінювали зміни пігментоутворення.

2.2.6 Визначення інтенсивності росту пігментоутворення дріжджових культур *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 та *Rh. rubra* RA-10

Для дослідження впливу гумінових речовин на інтенсивність синтезу пігментоутворення дріжджів *Rh. mucilaginosa* Y-1394 та *Rh. rubra* RA-10 використовували щільне поживне середовище Сабуро.

Спосіб приготування: вносили 25 г препарату в 1 дм³ очищеної води, розмішували, кип'ятили 1–2 хв. до повного розплавлення агару, фільтрували

через ватно-марлевий фільтр, розливали в посуд і стерилізували в автоклаві за температури $(121 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ протягом 20 хв.

Поживне середовище охолоджували до температури $45-50^{\circ}\text{C}$, розливали в стерильні чашки Петрі та вносили, в даний експеримент, зменшений об'єм гумінових речовин, а саме: 0,5 мл, 0,7 мл та 1,0 мл на 20 мл Сабуро. Після застигання середовище, дотримуючись правил асептики, підсушували за температури $(37 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ протягом (50 ± 10) хвилин. Далі вносили по 1 мл розчину суспензій культур *Rh. mucilaginosa Y-1394* та *Rh. rubra RA-10* в чашки Петрі. Бульйонні культури засівали методом газону на поверхню щільного поживного середовища за допомогою шпателя Дригальського. У якості контролю використовували середовище Сабуро без внесення гуматів. Повторність дослідів триразова.

Чашки інкубували впродовж 72 годин. Зміни інтенсивності наростання біомаси і пігментоутворення оцінювали візуально.

2.3 Статистична обробка отриманих результатів

Отримані експериментальні дані були оброблені статистично з обчисленням наступних величин: середнє арифметичне; середнє квадратичне відхилення; похибка та критерій достовірності Ст'юдента.

Середнє арифметичне даних визначали за формулою:

$$\bar{X} = \frac{\sum x_i}{n}, \quad (2.1)$$

де \bar{X} – середня арифметична;

$\sum x_i$ – сума варіант;

n – число варіант у виборці.

Для встановлення меж та величини інтервалу, у якому міститься дійсне значення вимірюваної величини, використовують квадратичне відхилення:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum(x - M)^2}{n - 1}}, \quad (2.2)$$

де $\sum(x - M)^2$ – сума квадратів відхилення результатів окремих вимірювань від середнього арифметичного.

При використанні вибіркової середньої для оцінки генеральної середньої необхідно знати похибку середнього арифметичного (стандартна похибка):

$$m = \frac{\delta}{\sqrt{n}}, \quad (2.3)$$

Розрахунок критерію достовірності, що вказує на точність розрахунків у порівнянні з контролем розраховували за формулою 2.3. Достовірність різниці середніх арифметичних t розраховували за критерієм Стьюдента-Фішера:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}, \quad (2.4)$$

де \bar{x}_1 – середнє арифметичне значення показника в контрольному досліді;

\bar{x}_2 – середнє арифметичне значення показника у досліджуваному зразку;

m_1 – помилка середнього арифметичного в контрольному досліді;

m_2 – помилка середнього арифметичного у досліджуваному зразку.

Статистичну обробку експериментальних даних проводили за загальноприйнятими методиками [70] з використанням прикладного пакету програм *Excel 2016*.

3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1 Фізико-хімічні параметри розчину гумату натрію

Проведений порівняльний аналіз отриманих фізико-хімічних показників гумату натрію та водогінної води показав певні відмінності порівняно з контролем (табл. 3.1)

Таблиця 3.1 – Фізико-хімічні показники розчинів гумату натрію

Показник	Водогінна вода	Гумат натрію
Температура, С°	22,2	22,2
ОВП, мВ	+204,7	+84,5
pH	6,9	9,25
Питома в'язкість	–	0,005
E, ms/m	1,75	2,05

Так, у результаті проведеного дослідження було встановлено, що гумат натрію має більш кращі показники, ніж водогінна вода. Температура аналізованих розчинів була однаковою і складала 22,2°C. Окисно-відновний потенціал водогінної води +204,7, що відповідає більшості досліджень. Показник ОВП водогінної води завжди більший від нуля і перебуває в межах від +200 до +500 мВ. Що вищий показник ОВП, то більше у воді вільних радикалів, речовин, які пошкоджують клітину. ОВП гумату натрію +84,5, тобто в 2 рази менший показника водопровідної води. Чим нижчий показник ОВП речовини, тим активніші в ній електрони, котрі здійснюють значний вплив на функціональні властивості електроактивних компонентів біологічних систем. Водневий показник водогінної води відповідає нормі, є нейтральним, проте як рН гумату натрію більш лужний. Визначена питома в'язкість робочих розчинів. Чиста водогінна вода не проводить електрику, тобто володіє нескінченною

електроопірністю. Електропровідність водогінної води отримали 1,75 ms/m, тоді як показник гумату натрію – 2,05 ms/m, що свідчить про більшу концентрацію солей.

3.2 Вплив гумату натрію на криву зростання бульйонної культури *Serratia marcescens* MP-141

Проведений аналіз параметрів росту бульйонної культури *Serratia marcescens* MP-141 за оптичною густиною виявив стимулюючу дію гумату натрію на ростові процеси порівняно з контролем (табл. 3.2).

Таблиця 3.2 – Показники оптичної щільності бульйонної культури *Serratia marcescens* MP-141

Час, год	Контроль (суспензія + МПБ)	Дослід		
		(суспензія + МПБ + ГР 1 мл)	(суспензія + МПБ + ГР 3 мл)	(суспензія + МПБ + ГР 7 мл)
Перший день досліду				
10:00	0,04	0,025	0,024	0,023
14:00	0,07	0,027	0,045	0,065
16:00	0,09	0,055	0,085	0,11
18:00	0,19	0,16	0,18	0,24
20:00	0,35	0,3	0,34	0,4
Другий день досліду				
9:00	1,5	1,4	1,35	1,31
11:00	1,5	1,5	1,45	1,4
13:00	1,6	1,6	1,5	1,5

Як свідчать дані таблиці 3.2, оптична щільність суспензії клітин *S. marcescens* MP-141 у контролі (без внесення гумату натрію), що вимірювалась нами відразу ж після її приготування, становила 0,04 ум.од. Показники оптичної щільності у варіантах із внесенням гумату натрію в середовище були майже вдвічі меншими за контрольні.

Результати вимірювань оптичної щільності бульйонної культури через 4 години культивування у термостаті показали, що у варіанті із додаванням 7 мл гумату натрію оптична щільність збільшилась в 3 рази порівняно з першими вимірюваннями. Показники оптичної щільності у варіанті з внесенням 3 мл гумату збільшились у 2 рази, тоді як оптична щільність у варіанті з внесенням 1 мл гумату натрію показники практично не змінилися.

Така сама тенденція спостерігалась і через 6 годин культивування культури *S. marcescens* MP-141: більш інтенсивний ріст спостерігався у варіантах з додаванням до середовища МПБ 3 мл та 7 мл гумату. У контролі та досліді з внесенням 1 мл гумату спостерігався помірний ріст. Через 8 годин після культивування ріст бактерії в досліді з 7 мл гумату натрію збільшився в 10 разів, з 3 мл – в 7,5 разів, з 1 мл – в 6,5 і в контролі лише в 5 разів. Оцінюючи весь перший день за 11 годин все ж найбільший вплив гумату натрію спостерігався при 7 мл – оптична щільність зросла в 17 разів, при 3 мл – в 14, при 1 мл – в 12 і контроль – в 9 разів.

На другий день показники дещо змінилися, а саме спостерігалось зменшення оптичної щільності з підвищенням концентрації. Оптична щільністю контролю порівняно з дослідом була трохи вищою.

Проте, оцінюючи два дні вимірів, можна сказати, що все ж гумат натрію сприяє збільшенню росту бактерій *S. marcescens* MP-141. В контролі загальна оптична щільність збільшилась в 40 разів. В досліді з гуматами при 1 мл – в 64 рази, при 3мл – в 62 рази, при 7мл – в 65 разів. Тобто, дійсно гумати стимулюють ріст грамнегативної бактеріальної культури *S. marcescens* MP-141.

Проте, за іншими даними, вважається встановленим той факт, що стимулюючий вплив гумінові речовини дають за певних, досить низьких

концентрацій, а за вищих концентрацій проявляється інгібування біологічної активності організмів.

Результатом взаємодій гуматів з живими клітинами є вивільнення енергії, яка замість того, щоб витрачатися на компенсацію несприятливих впливів зовнішнього середовища, може бути витрачена клітиною на зростання і розмноження.

Гумінові речовини віддають живим організмам необхідні їм елементи живлення поступово, в міру їх споживання.

У більшості досліджень зазначено, що стимулюючий вплив гумінових речовин пов'язаний з тим, що вони містять амінокислоти, причому приблизно в тих же співвідношеннях, що й в міститься в бактеріальній культурі. Отже, отримані нами результати можуть бути пояснені тим, що бульйонна бактеріальна культура *S. marcescens* MP-141 жила в збільшеною в двічі кількістю амінокислот, що обумовило такий інтенсивний ріст порівняно з контролем (без внесення гумату натрію).

Ріст *Serratia marcescens* MP-141 характеризувався наявністю трьох фаз росту, як видно з побудованої кривої росту культури (рис. 3.1)

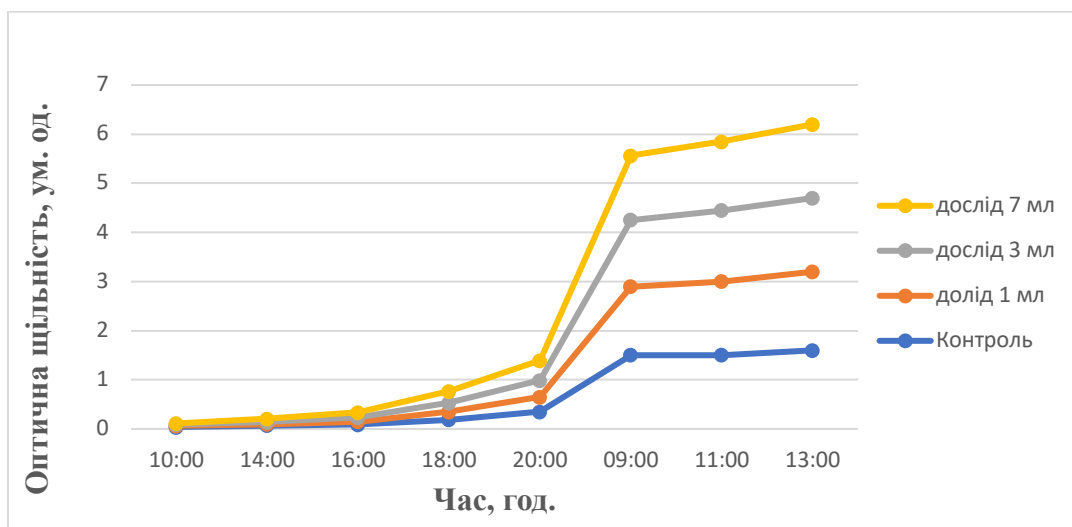


Рисунок 3.1 – Криві росту бактеріальної культури *Serratia marcescens* MP-141 за дії гумату натрію

Початкова фаза, яка охоплює проміжок часу від моменту засіву бактеріальної культури на живильне середовище й до досягнення максимальної швидкості росту, в контролі та досліді за 4 години була майже однаковою. Згодом збільшувалася. В цей період бактеріальна культура пристосовувалася до умов культивування.

Експоненціальна, або лог-фаза в контролі почалася пізніше, ніж в досліді з гуматами. В цей період розмноження і ріст бактерій відбувався з найбільшою швидкістю, внаслідок поглинання поживних речовин із живильного середовища і нагромадження в ньому шкідливих продуктів обміну. Цим пояснюється уповільнений ріст в контролі. В досліді з гуматами натрію бактерії отримували додаткові поживні речовини з гумінових речовин.

Стаціонарна фаза настала тоді, коли кількість клітин зупинилася збільшуватися. У цей період кількість новоутворених клітин дорівнює числу відмерлих, а тому кількість живих клітин деякий час залишалася незмінною. Дана фаза характеризується максимальною величиною біомаси, максимальною життєдіяльністю мікробної популяції.

Таким чином, нами виявлена стимулююча дія гумату натрію на ріст бактеріальної культури *Serratia marcescens* MP-141. Отримані результати спонукають нас продовжити дослідження щодо стимулюючої дії гумінових речовин на бактерії.

3.3 Вплив гумату натрію на криву зростання бульйонних культур дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 та *Rh. rubra* RA-10

Проведений аналіз параметрів росту бульйонних культур *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 та *Rhodotorula rubra* RA-10 за оптичною густиною виявив стимулюючу дію гумату натрію на ростові процеси порівняно з контролем (табл. 3.3 та 3.4).

Таблиця 3.3 – Показники оптичної щільності бульйонної культури дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa*

Час, год	Контроль (суспензія+ Сабуро)	Дослід		
		(суспензія + Сабуро + ГР 1 мл)	(суспензія + Сабуро + ГР 3 мл)	(суспензія + Сабуро + ГР 7 мл)
Перший день досліду				
10:00	1,25	1,25	1,3	1,35
Четвертий день досліду				
10:00	1,55	1,5	1,6	1,7
П'ятий день досліду				
10:00	1,6	1,65	1,7	1,8

Як свідчать дані таблиці 3.3, оптична щільність суспензії клітин *Rh. mucilaginosa Y-1394* у контролі (без внесення гумату натрію), що вимірювалась нами відразу ж після її приготування, становила 1,25 ум.од., так само, як і в досліді зі внесенням 1 мл гумінових речовин. В той час, як у варіантах із внесенням 3 мл – 1,3 ум.од., а при 7 мл – 1,35 ум.од. Тобто, показники оптичної щільності у варіантах із внесенням гумату натрію в середовище були незначно, але більшими за контрольні.

На четвертий день досліду активно проявилась дія гумату натрію в досліді з найбільшим його внесенням, тобто 7 мл – показники оптичної щільності становили 1,7 ум.од. А в контролі та у варіанті з 1 мл була майже однаковою, трохи збільшилась щільність при 3 мл.

Така сама тенденція спостерігалась і на наступний день культивування культури: більш інтенсивний ріст спостерігався у варіантах з додаванням до середовища Сабуро 3 мл та 7 мл гумату.

Ріст *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 характеризувався наявністю трьох фаз росту, як видно з побудованої кривої росту культури (рис. 3.2)

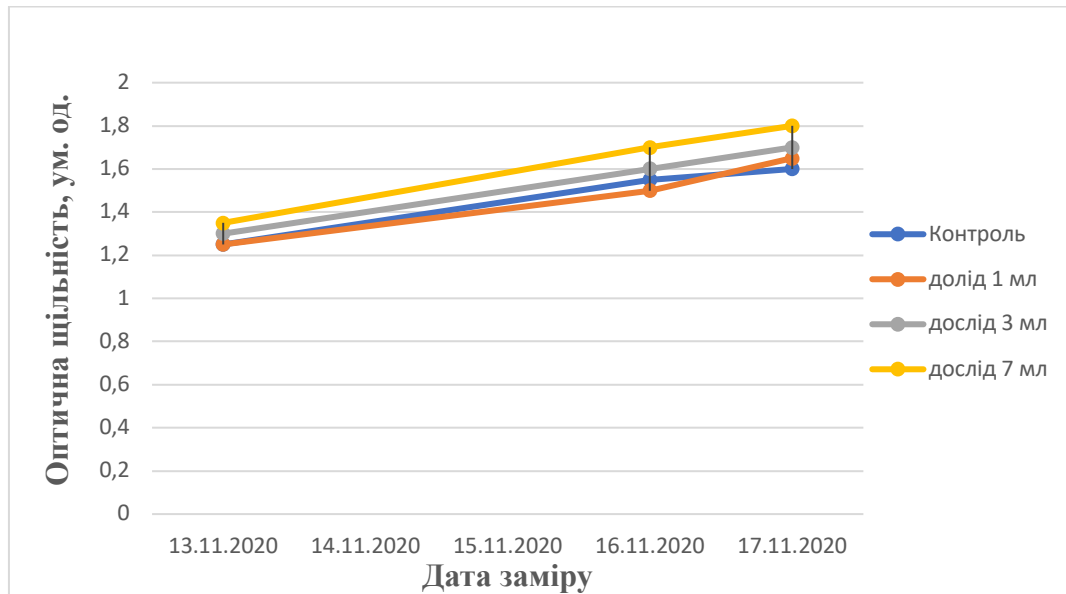


Рисунок 3.2 – Криві росту дріжджової культури *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 за дії гумату натрію

Початкова фаза в контролі та досліді у варіанті з 1 мл ГР за першу добу була однаковою. Проте у варіантах зі внесенням 3 мл була трохи більшою, і у варіанті з 7 мл ГР максимальна. В цей період бактеріальна культура пристосовувалися до умов культивування.

Експоненціальна, або лог-фаза в контролі почалася раніше, ніж в досліді з 1 мл ГР. Спостерігалось збільшення у варіантах з 3 мл та 7 мл. В цей період розмноження і ріст бактерій відбувався з найбільшою швидкістю. В досліді з гуматами натрію дріжджі отримували додаткові поживні речовини з гумінових речовин.

Стаціонарна фаза характеризується максимальною величиною біомаси, максимальною життєдіяльністю дріжджової популяції.

Тобто, гумат натрію стимулював ріст дріжджової культури *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394.

Таблиця 3.4 – Показники оптичної щільності бульйонної культури дріжджів *Rhodotorula rubra RA-10*

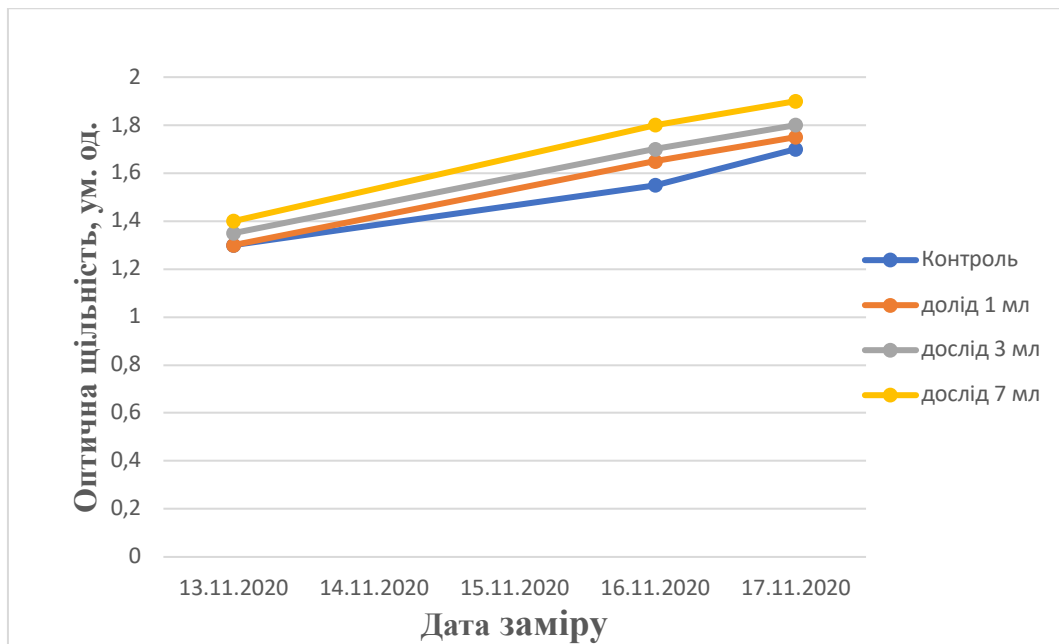
Час, год	Контроль (суспензія + Сабуро)	Дослід		
		(суспензія + Сабуро + ГР 1 мл)	(суспензія + Сабуро + ГР 3 мл)	(суспензія + Сабуро + ГР 7 мл)
Перший день дослід				
10:00	1,3	1,3	1,35	1,4
Четвертий день дослід				
10:00	1,55	1,65	1,7	1,8
П'ятий день дослід				
10:00	1,7	1,75	1,8	1,9

За даними таблиці 3.4, культура дріжджів *Rh. rubra RA-10* одразу добре проявила свої властивості при додаванні гумату натрію в порівнянні з контролем. Після інокуляції культури в контролі спостерігали показники 1,3 ум.од, такі ж були і в досліді з внесенням 1 мл ГР. Значне збільшення в перший день було в досліді 7 мл гумату натрію. На четвертий день спостерігався сплеск росту культури при максимальних концентраціях гуматів.

Порівнюючи дві культури дріжджів можна стверджувати, що найкращий ріст та швидкість реакцій в присутності гумінових речовин має *Rh. rubra RA-10*.

Ріст *Rhodotorula rubra RA-10* характеризувався наявністю трьох фаз росту, як видно з побудованої кривої росту культури (рис. 3.2)

Початкова фаза в контролі та досліді у варіанті з 1 мл та 3 мл гуматів була майже однакова. Згодом збільшувалася. В цей період бактеріальна культура пристосовувалися до умов культивування.



Рисунк 3.3 – Криві росту дріжджової культури *Rhodotorula rubra RA-10* за дії гумату натрію

Лог-фаза з найбільшими показниками спостерігалась у варіантах з 3 мл та 7 мл ГР, ніж в контролі та досліді з 1 мл. В цей період розмноження і ріст бактерій відбувався з найбільшою швидкістю, внаслідок поглинання поживних речовин із живильного середовища і нагромадження в ньому шкідливих продуктів обміну.

Стаціонарна фаза в контролі та першому варіанті була однаковою, трохи більшими показниками характеризувався дослід з варіантом 3 мл ГР, а найвищий та якісний результат мав варіант з 7 мл гуматів.

3.4 Вплив гумінових речовин на синтез пігменту продигіозину у *Serratia marcescens MP-141*

Проведений аналіз впливу гумату натрію на синтез пігменту продигіозину у бактерії *Serratia marcescens MP-141* показав залежність інтенсивності

пігментоутворення від кількості гумату натрію у поживному середовищі МПА. Встановлено, що в контролі та дослідах бактерії *Serratia marcescens* MP-141 досить добре ростуть та утворюють типові за морфологією колонії. Слід зазначити, що у варіанті з внесенням 1 мл розчину гумату натрію пігментоутворення спостерігалось вже через 24 години культивування, тоді як у варіанті з 0,7 мл гумату пігмент продигіозин був ледь помітний, а в контролі та досліді з 0,5 мл взагалі відсутній.

Результати візуальної оцінки інтенсивності синтезу пігменту за 4-бальною шкалою представлені в табл. 3.5.

Таблиця 3.5 – Вплив різної кількості гумату натрію на синтез пігменту продигіозину у бактеріальній культурі *Serratia marcescens* MP-141

Контроль (<i>S. marcescens</i> + МПБ)	Дослід		
	(<i>S. marcescens</i> + МПБ + ГР 0,5 мл)	(<i>S. marcescens</i> + МПБ + ГР 0,7 мл)	(<i>S. marcescens</i> + МПБ + ГР 1 мл)
Перша доба культивування			
-	-	+	++
Друга доба культивування			
+	++	++	+++
Третя доба культивування			
++	+++	++++	++++
Восьма доба культивування			
+++	++++	++++	++++

Примітка: пігментоутворення: +++++ – інтенсивне; +++ – добре; ++ – помірне; + – слабке; - – відсутнє.

Як свідчать дані табл. 3.5, на другу добу з'явився пігмент в контролі, проте він був слабким. У варіантах з внесенням 0,5 мл та 0,7 мл гумату натрію

інтенсивність пігментоутворення була помірною, а з 1 мл – добрим. На третю добу культивування найінтенсивніше пігментоутворення було виявлене в дослідах з гуматом натрію в кількості 0,7 мл та 1 мл, добре в досліді з 0,5 мл гумату і помірне в контролі. На восьму добу дослідження спостерігалось інтенсивне пігментоутворення в усіх чашках Петрі.

3.5 Вплив гумінових речовин на синтез пігменту дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 та *Rh. rubra* RA-10

Проведений аналіз впливу гумату натрію на синтез пігменту дріжджів роду *Rh. mucilaginosa* Y-1394 показав залежність інтенсивності пігментоутворення від кількості гумату натрію у поживному середовищі Сабуро.

Таблиця 3.6 – Вплив різної кількості гумату натрію на синтез пігменту дріжджової культури *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394

Контроль (<i>Rh. Rubra</i> + Сабуро)	Дослід		
	(<i>Rh. mucilaginosa</i> + Сабуро + ГР 0,5 мл)	(<i>Rh. mucilaginosa</i> + Сабуро + ГР 0,7 мл)	(<i>Rh. mucilaginosa</i> + Сабуро + ГР 1 мл)
Перша доба культивування			
-	+	+	++
Четверта доба культивування			
++	++	+++	+++
П'ята доба культивування			
++	+++	++++	++++

Примітка: пігментоутворення: ++++ – інтенсивне; +++ – добре; ++ – помірне; + – слабке; - – відсутнє.

Як свідчать дані табл. 3.6, перша доба культивування характеризувалась в контролі відсутністю пігментоутворення, в той час, як в дослідах у варіантах зі внесенням 0,5 мл та 0,7 мл – було слабке, а зі внесенням 1 мл – помірне. На четверту добу культивування контроль та дослід з 0,5 мл ГР – мав помірне пігментоутворення, а дослід з 0,7 мл та 1 мл – добре. На п'яту добу інтенсивне пігментоутворення спостерігалось у досліді з 0,7 мл та 1 мл ГР, а добре в усіх інших чашках Петрі.

Таблиця 3.7 – Вплив різної кількості гумату натрію на синтез пігменту дріжджової культури *Rhodotorula rubra RA-10*

Контроль (<i>Rh. Rubra</i> + Сабуро)	Дослід		
	(<i>Rh. rubra</i> + Сабуро + ГР 0,5 мл)	(<i>Rh. rubra</i> + Сабуро + ГР 0,7 мл)	(<i>Rh. rubra</i> + Сабуро + ГР 1 мл)
Перша доба культивування			
-	+	++	++
Четверта доба культивування			
++	++	+++	++++
П'ята доба культивування			
++	+++	++++	++++

Примітка: пігментоутворення: +++++ – інтенсивне; ++++ – добре; ++ – помірне; + – слабке; - – відсутнє.

Як свідчать дані табл. 3.7, в першу добу культивування в контролі було відсутнє пігментоутворення, а в дослідах з 0,5 мл та 0,7 мл спостерігалось слабке, помірне ж було в досліді з 1 мл гумату натрію. На четверту добу культивування у варіантах з 0,7 мл та 1 мл ГР спостерігалось добре пігментоутворення, а в контролі та першому досліді – слабке. Активність процесів пігментоутворення

була зафіксована на п'яту добу після інокуляції – гумат натрію в кількості 0,7 мл та 1 мл дав дуже яскраве та інтенсивне пігментоутворення.

4 ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

Тема моєї роботи: «Вплив гумінових речовин на інтенсивність росту пігментсинтезувальної бактерії *Serratia marcescens*». У зв'язку з цим лабораторні дослідження проводилися в лабораторії мікробіології № 206 кафедри загальної та прикладної екології і зоології Запорізького національного університету.

У перший день я була ознайомлена з загальними вимогами щодо охорони праці згідно з інструкції з охорони праці для роботи студентів, аспірантів, лаборантів, та викладачів в лабораторії кафедри загальної та прикладної екології. Не допускаються до роботи студенти та аспіранти, що не пройшли інструктаж з охорони праці і не оформлені документально в журналі реєстрації інструктажів. Щоб запобігти виникненню нещасних випадків, пожеж і вибухів я вивчила і виконувала правила з охорони праці, виробничої санітарії й пожежної профілактики. На всі види робіт що являють собою потенційну небезпеку була наявна інструкція, що узгоджується з відділом охорони праці. В лабораторіях проводили вологе прибирання і регулярне провітрювання протягом робочого дня. Студенти та викладачі повинні працювати в лабораторії тільки в спеціальному одязі. Забороняється знаходитися в лабораторії у верхньому одязі. Під час проведення експерименту була одягнута в спеціальний одяг.

Під час роботи в лабораторії я керувалась інструкцією з охорони праці при роботі студентів у лабораторіях кафедри загальної та прикладної екології та зоології та ДНАОП 9.2.301.06–98 «Правила безпеки при проведенні учбово-виховного процесу в кабінетах (лабораторіях) загальноосвітніх учбових закладів», затвердженої наказом Держнагляду охорони праці України від 16.11.98 № 222. Згідно цієї інструкції, у лабораторії необхідно використовувати спеціальний захисний одяг: халат, рукавички та маску. Прилади та посуд ретельно перевірялися перед використанням [71].

Перед початком роботи кожного дня проводяться такі міри по охороні праці: за 20 хвилин до початку виконання робіт провітрювали лабораторію,

одягали спецодяг, перед проведення експериментальних та дослідницьких робіт разового характеру, що пов'язані з використанням високої напруги, хімічних реактивів проводили цільовий інструктаж та обов'язково зареєстрували інструктаж у відповідному журналі.

Перед початком роботи уважно ознайомилася із завданням, правилами безпеки робіт, обладнанням, матеріалами та інструментом, потім перевірила наявність захисного заземлення електричних приладів. Упевнившись в наявності засобів гасіння вогню і надання першої допомоги, та наявності розчинів для знешкодження речовин, які небезпечні для організму розпочинала роботу.

Також потрібно виконувати такі положення з охорони праці під час роботи в лабораторії: усі прилади, в яких це передбачено, робилося заземлення, електронагрівальні прилади ставили на вогнетривку основу, та обов'язково заземлювали, не дозволяється працювати в лабораторії самому.

Після закінчення роботи я вимивала забруднений посуд, використані реактиви і розчини нейтралізувала і знезаражувала, вимикала електроживлення і закривала приміщення.

Також окремим інструктажем мене ознайомили з основними правилами пожежної безпеки в даній лабораторії.

Пожежна безпека об'єкту регламентується Законом України «Про пожежну безпеку» від 17.12.93 року, правилами пожежної безпеки України, затвердженими 14.06.95 року наказом № 400 МВС України та даною інструкцією. Пожежна безпека повинна забезпечуватися: системою запобігання пожежі та системою пожежного захисту. Небезпечними чинниками пожежі, що впливають на людей є: відкритий вогонь і іскри; підвищення температури повітря, предметів тощо, токсичні продукти горіння, дим, зниження концентрації кисню, завалення чи пошкодження споруд та установок, вибух. Інструктажі і навчання із пожежної безпеки регламентуються Типовим положенням про навчання, інструктажі та перевірку знань з питань пожежної безпеки (додаток до правил ПБ України) і повинні проводитись: при проведенні всіх видів інструктажів з охорони праці при проведенні навчання. Проведення вогневих

робіт в приміщення факультету допускається тільки при наявності письмового дозволу на їх проведення. Зобов'язаний: здійснювати контроль за суворим дотриманням всіма співробітниками і відвідувачами правил і норм пожежної безпеки, при закінченні роботи раніше інших, призначати з числа залишених відповідальну особу за виконання своїх обов'язків. Особа, відповідальна за пожежний стан приміщення у відповідності зі ступенем своєї провини і вагою наслідків пожежі, підлягає адміністративній, матеріальній, дисциплінарній і іноді кримінальній відповідальності. Має право: вимагати від співробітників безпосереднього виконання правил пожежної безпеки в підпорядкованому йому приміщенні [72].

У навчальних аудиторіях, лабораторіях та кабінетах потрібно розміщати тільки необхідні для забезпечення навчального процесу меблі, а також прилади, обладнання та речі та інші, які повинні зберігатися в шафах стаціонарно установлених стійках. Після закінчення занять всі пожежовибухонебезпечні матеріали і обладнання повинні бути прибрані з навчальних приміщень в спеціально відведені та призначені приміщення. Приміщення повинні підтримуватися в чистоті. В навчальних закладах заборонено використання електронагрівальних пристроїв поза спеціально відведених приміщень. Всі електроустановки повинні мати захист від струму, короткого замикання і інших відхилень від нормальних режимів роботи, що можуть призвести до виникнення пожежі. Переносні електросвітильники повинні бути напругою не вище 36 В, виконанні з дотриманням правил електробезпечності. Живлення переносних світильників від автотрансформатора заборонено. Співробітники повинні знати пожежну безпеку хімічних речовин та матеріалів, які використовуються в навчальному та науковому процесі, способи їх гасіння і дотримання правил безпеки при роботі з ними.

Забороняється користуватись відкритим вогнем та легкозаймистими матеріалами. Всі роботи, пов'язані з можливістю використання токсичного і пожежонебезпечного газу і пару, повинні проводитися тільки у витяжних шафах, обладнаних вентиляцією. Відпрацьовані небезпечні речовини необхідно збирати

в спеціальну герметичну тару, яка в кінці роботи видаляється з приміщення для утилізації. Проведення робіт на установках, де застосовуються пожежовибухонебезпечні матеріали, допускається тільки після прийняття їх в експлуатацію спеціальною комісією, яка утворена в університеті. Приміщення повинні бути забезпечені первинними засобами пожежогасіння залежно від площі приміщення та його призначення. В лабораторії повинен бути порошковий або вуглекислотний вогнегасник. Технічна робота, обслуговування і зберігання вогнегасників здійснюється згідно з паспортними даними заводу виготовлювача.

Вогнегасник повинен мати: інвентарний номер; пломби та устрій ручного пуску; бірки та маркувальні надписи на корпусі, красне сигнальне забарвлення згідно державного стандарту.

До засобів пожежогасіння повинен був забезпечений вільний доступ. Використання засобів пожежогасіння не за призначення заборонено.

При виникненні пожежі в першу чергу дії повинна бути спрямованні на евакуацію людей. При виявленні пожежі необхідно організувати:

- негайний виклик пожежної охорони по телефону 101;
- сповістити про пожежну ланку пожежогасіння університету (телефон 64-37-46; 64-46-12; 2-33) та штаб цивільної оборони;
- оповістити про пожежу людей, які знаходяться у будинку;
- відключити від електропостачання прилади та обладнання;
- приступити до гасіння пожежі первинними засобами пожежогасіння, а при неможливості здійснення даних дій, вийти з приміщення, щільно закрити за собою двері і діяти відповідно до розпоряджень свого керівника;
- під час пожежі необхідно утримуватися від відкритих вікон та дверей, щоб уникнути припливу свіжого повітря.

Після прибуття пожежної безпеки, зазначені вище дії, виконуються в даній лабораторії. Під час проведення мною моїх дослідів я дотримувалася всіх зазначених вимог.

Статистична обробка даних проводилася на комп'ютері. Вимоги безпеки перед початком роботи:

- перевірила наявність вентиляції та провітрила приміщення;
- перевірила захисне заземлення (занулення) та справність комп'ютеру.

Про будь які неполадки з комп'ютером потрібно повідомити керівника та діяти за його розпорядженнями;

- видалила пил з екрану;
- упевнилася в наявності засобів гасіння вогню;
- одягнула спецодяг.

Вимоги безпеки під час роботи на комп'ютері:

- увімкнула комп'ютер, відрегулювала яскравість і контрастність монітора. Не слід робити зображення занадто яскравим, від цього втомлюються очі;

- відстань від ока до екрана дисплея становила 50-70 см, кут зору 10-20 град., але не більше 40 град. Переважним є розташування площі екрана перпендикулярно до лінії зору. Руки розташовуватися на робочому столі в горизонтальному положенні, або злегка нахилені, кут ліктя складав 70-90 град;

- дотримувалася регламентованих перерв, активно їх проводила, регулярно займалася виробничою гімнастикою (як для тіла так і для очей), рівномірно розподіляла завдання;

- для запобігання перевантаження організму обмежувала марний час роботи за відео терміналами до 50 % тривалості зміни;

- різні види робіт вимагають різного підходу в організації перерв. Для робіт, що виконуються з великим навантаженням, рекомендується 10–15 хвилин перерва після кожної години роботи, а при неінтенсивній монотонній роботі 10–15 хвилин через кожні дві години. Кількість мікропауз (тривалістю 2 хвилини) повинно регулюватися індивідуально;

- форми і зміст перерв можуть бути різними: виконання альтернативної допоміжної роботи, що не вимагає великої напруги; проведення фізичних вправ

на корекцію вимушеної пози; покращення венозного кровообігу; часткове поповнення дефіциту активного руху, зняття навколоочного навантаження;

- при роботі за комп'ютером потрібно слідкувати за тим, щоб робоче місце не було зашарашено легкозаймистими предметами, папіром тощо;

- забороняється встановлювати на комп'ютер або дисплей будь-які предмети;

- під час роботи за комп'ютером була постійна вентиляція та доступ свіжого повітря.

При виконанні роботи мною були дотримані всі правила безпеки. Таким чином, знання дисципліни «Охорона праці» допомогли мені уникнути небезпечних випадків та травмування.

ВИСНОВКИ

1. Для оцінки впливу гуматів на ріст і синтез пігментів у бактерій і дріжджів має фізико-хімічна характеристика стану поживного середовища. Встановлено, що розчин гумату натрію на якому готували середовище має ОВП +84,5 мВ, рН 9,25. А також вода, яка була використана для приготування поживного середовища має ОВП +204,7 мВ, рН 6,9.

2. Відмічена стимулююча дія гумінових речовин на ріст і розмноження бактерій *Serratia marcescens* MP-141. Найінтенсивніший ріст культури спостерігався за дії 7 мл гуматів, оптична щільність клітин становила 0,4 ум.од., найменший ріст культури був зафіксований у досліді з 1 мл гуматів, майже такий показник має і контроль.

3. За результатами даних гумат натрію має стимулюючу дію на інтенсивність синтезу пігменту продигіозину. В перший день відмічене помірне пігментоутворення в досліді з 1 мл гумату натрію. В той час, як в контролі та досліді його не було. На другий день пігментоутворення збільшувалося з підвищенням концентрації гумату. І на третій день найінтенсивніше пігментоутворення було в досліді з 0,7 мл та 1 мл гумату натрію.

4. Дослідження показали, що стимулюючий ефект приросту біомаси в присутності гумінових речовин і збільшення інтенсивності пігментоутворення спостерігалось як у прокаріотів (*Serratia marcescens* MP-141), так і у еукаріотів (рід *Rhodotorula*). Але інтенсивність синтезу пігментів у *Rhodotorula* вища ніж у бактерій *Serratia marcescens*.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Дана кваліфікаційна робота має велике практичне значення. Воно полягає в тому, що проведені дослідження з визначення стимулюючого ефекту гумінових речовин на приріст біомаси та інтенсивність пігментоутворення в *Serratia marcescens* MP-141, *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394, *Rhodotorula rubra* RA-10 поширюють уявлення про вплив гумінових речовин, як на прокаріотів, так і еукаріотів. Ідентичні досліди раніше не проводились, та не зустрічаються в науковій літературі. Виявлено можливості їх використання в промисловому виробництві і сільському господарстві.

2. Результати експериментальних досліджень кваліфікаційної роботи магістра можуть бути використані в лекціях та лабораторних роботах у змісті навчальних дисциплін: «Екологічна мікробіологія і вірусологія», «Біоіндикація та біотестування», «Ґрунтознавство», «Біофізика» та «Біологічні методи очистки стічних вод».