

ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ФАКУЛЬТЕТ БІОЛОГІЧНИЙ

Кафедра загальної та прикладної екології і зоології

Кваліфікаційна робота
магістра

на тему **ВПЛИВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ Cr I Zn НА СИНТЕЗ ПІГМЕНТІВ У**

ДРІЖДЖІВ РОДУ *RHODOTORULA*

**THE EFFECT OF HEAVY METALS Cr AND Zn ON THE SYNTHESIS OF
PIGMENTS IN YEASTS OF THE *RHODOTORULA* GENUS**

Виконала : студентка 2 курсу, 8.1011

Спеціальності 101 Екологія

освітньо-професійної програми «Екологія та охорона
навколишнього середовища»

Фадєєва Т. М.

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

Рецензент _____ доцент, доцент, к.с.г.н., Притула Н. М.

ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет біологічний
Кафедра загальної та прикладної екології і зоології
Освітній рівень 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
«16» травня 2022 р.

ЗАВДАННЯ

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТЦІ

Фадєєвій Тетяні Миколаївні

1. Тема роботи: Вплив важких металів Cr і Zn на синтез пігментів у дріжджів роду *Rhodotorula* The effect of heavy metals Cr and Zn on the synthesis of pigments in yeasts of the *Rhodotorula* genus

керівник роботи Рильський Олександр Федорович, д.б.н., професор
затверджена наказом ЗНУ від «12» липня 2022р. № 835-с

2. Строк подання студентом роботи грудень 2022 року

3. Вихідні дані до роботи : дослідження 2022 року

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань до розробки):
дослідити токсичний вплив йонів Хрому (VI) та Цинку (II) на пігментосинтезувальну здатність дріжджів; розрахувати різницю в інтенсивності кольору пігментів контрольних та дослідних зразків дріжджів штамів *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 та *Rhodotorula glutinis* Y-1333.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень):
Таблиці 3.1–3.4, Рисунки 1.1, 3.1–3.2, Додатки А, Б.1, Б.2.

6. Консультанти:

Розділ	КОНСУЛЬТАНТ	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
4	Костюченко Н.І. к.б.н., доцент		

7. Дата видачі завдання 16.05.2022 р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів дипломної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітки
1	Огляд літературних джерел. Написання відповідного розділу роботи	Червень-листопад 2022	Виконано
2	Вивчення, засвоєння методики дослідження. Написання відповідного розділу роботи	Липень-серпень 2022	Виконано
3	Засвоєння правил техніки безпеки під час виконання експериментальної частини. Написання відповідного розділу роботи.	Вересень 2022	Виконано
4	Проведення експериментальних досліджень. Оформлення результатів експерименту (таблиці, рисунки). Написання відповідного розділу роботи.	Жовтень 2022	Виконано
5	Оформлення кваліфікаційної роботи. Передзахист роботи	Листопад 2022	Виконано
6	Рецензування кваліфікаційної роботи	Грудень 2022	Виконано
7	Захист кваліфікаційної роботи	Грудень 2022	Виконано

Студентка _____ Фадєєва Т. М.

Керівник роботи _____ Рильський О. Ф.

Нормоконтроль пройдено

Нормоконтролер _____ Костюченко Н. І.

РЕФЕРАТ

Робота викладена на 50 сторінках друкованого тексту, містить 4 таблиці, 3 рисунка та 3 додатка. Перелік посилань включає 61 джерело.

Об'єктом дослідження були пігментосинтезувальні дріжджі роду *Rhodotorula*.

Метою роботи було дослідити вплив йонів важких металів Хрому і Цинку на каротиносинтезувальну здатність дріжджів роду *Rhodotorula*.

Відповідно до результатів проведених досліджень було встановлено, що пігментосинтезувальні дріжджі втрачали здатність до утворення пігментів з певних концентраційних рівнів йонів Хрому і Цинку.

Методи досліджень – мікробіологічні, біоіндикаційні та статистичні.

Новизна роботи полягає в тому, що було проведено дослідження впливу йонів Хрому та Цинку на пігментосинтезувальну здатність дріжджів таких штамів, як *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 та *Rhodotorula glutinis* Y-1333.

Значущість роботи – результати дослідження поширюють можливість використання дріжджів як біоіндикаторів забруднень та дозволяє застосовувати їх для біоіндикації стічних вод та детоксикації живих організмів за впливу важких металів.

ДРІЖДЖІ-БІОІНДИКАТОРИ, ПІГМЕНТ, ВАЖКІ МЕТАЛИ,
RHODOTORULA, ШТАМИ, КОЛОНІЇ, СИНТЕЗ

ABSTRACT

The work described in 50 pages of printed text, contains 4 tables, 3 figures and 3 addition. The list of references includes 61 sources.

The object of the study is pigment synthesizing yeasts of the genus *Rhodotorula*.

The purpose of the work is to investigate the influence of heavy metal ions Chroma and Zinc on carotenogenising capacity yeasts of the genus *Rhodotorula*.

As a result of the study, it was established that the pigment-synthesizing yeast lost the ability to form pigments from certain concentration levels of Chromium and Zinc ions.

Research methods – microbiology, bioindications and statistical.

The novelty of the work lies in the fact that investigated the influence of Chroma and Zinc ions on the pigment synthesis ability of yeasts such as *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 та *Rhodotorula glutinis* Y-1333.

Significance of work – the results of the study extend the idea of using yeasts from the point of view of pollution bioindicators, which allows them to be used for bioindication for wastewater bioindication and detoxification of living organisms under the influence of heavy metals.

YEASTS BIOINDUCTORS, PIGMENT, HEAVY METALS,
RHODOTORULA, STRAINS, COLONIES, SYNTHESIS

ЗМІСТ

ВСТУП	7
1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ	9
1.1 Загальна характеристика важких металів – Cr і Zn	9
1.2 Характеристика дріжджів роду <i>Rhodotorula</i>	15
1.3 Вплив ультрафіолетового випромінювання на синтез дріжджів роду <i>Rhodotorula</i>	18
1.4 Пігментосинтезувальні дріжджі, як біоіндикатори важких металів.....	20
1.5 Біоремедіація забруднених важкими металами середовищ.....	22
2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	25
2.1 Об'єкт дослідження.....	25
2.2 Методи культивування пігментосинтезувальних дріжджів	25
2.2 Метод оцінки різниці інтенсивності кольору пігментів дріжджових клітин	26
3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	28
3.1 Вплив концентраційного ряду йонів Хрому та Цинку на інтенсивність пігментоутворення дріжджів роду <i>Rhodotorula</i>	28
3.2 Оцінка різниці в інтенсивності кольору пігментів дріжджових клітин роду <i>Rhodotorula</i> в присутності Cr ⁶⁺ та Zn ²⁺	30
4 ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ	34
ВИСНОВКИ	39
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	40
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ	41
ДОДАТКИ	48

ВСТУП

Постійне потрапляння важких металів відбувається до біосфери у результаті вулканічного виверження, а також магнітної і гідротермальної активності. Проте рівень техногенного забруднення важкими металами значно більший та постійно зростає разом з розвитком промисловості [2].

Серед різноманітних забруднюючих речовин важких металів (в тому числі Меркурій, Плюмбум, Кадмій, Цинк, Арсен) та їх сполуки виділяються поширеністю та високою токсичністю, багато з них – також здатністю до накопичення в живих організмах.

Найстійкішими до забруднення йонами важких металів є мікроміцети, дріжджі, деякі тіонові бактерії та патогенні мікроорганізми. Одним із пояснень стійкості мікроорганізмів до йонів металів є їх здатність акумулювати останні у клітинах.

Рід *Rhodotorula* — це рід пігментних дріжджів, частина відділу *Basidiomycota*. По-перше, його легко ідентифікувати за характерними оранжево-червоними колоніями при вирощуванні на декстрозному агарі Сабуро (SDA). Цей характерний колір є результатом пігментів, які створюють дріжджі, щоб блокувати певні довжини хвилі світла (620–750 нм), які інакше були б шкідливими для клітини. Цей рід є звичайним мешканцем навколишнього середовища. Він здатний видаляти надзвичайно добре азотисті сполуки з навколишнього середовища, зростаючи навіть у повітрі, яке було ретельно очищене від будь-яких забруднень фіксованим азотом.

Таким чином, пігменти мікроорганізмів – є вторинними метаболітами, тобто вони не є речовинами, що можуть бути обов'язково присутніми у всіх мікроорганізмів. Однак, основною фізичною властивістю пігменту є здатність поглинати певні промені спектру [26, 27], що, в свою чергу, є основною діагностичною ознакою при ідентифікації пігментів [28].

Актуальність теми визначається необхідністю дослідження біоіндикації сполук важких металів за рахунок мікроорганізмів та направлення результатів на вивчення зниження токсичності важких металів.

Метою роботи було дослідити вплив йонів важких металів Хрому і Цинку на каротиносинтезувальну здатність дріжджів роду *Rhodotorula*.

Об'єктом дослідження були пігментосинтезувальні дріжджі роду *Rhodotorula*.

Предмет дослідження: пігментосинтезувальна здатність дріжджів штамів *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 та *Rhodotorula glutinis* Y-1333 за дії важких металів.

Виходячи з вищезазначеної мети були поставлені наступні завдання:

1. Дослідити токсичний вплив йонів Хрому (VI) та Цинку (II) на пігментосинтезувальну здатність дріжджів.

2. Розрахувати різницю в інтенсивності кольору пігментів контрольних та дослідних зразків дріжджів штамів *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 та *Rhodotorula glutinis* Y-1333.

Результати досліджень апробовані в студентській конференції: X Регіональній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук» (2022 р.).

1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Загальна характеристика важких металів – Cr і Zn

Важкі метали – група елементів з металічними властивостями, що включає перехідні метали, деякі металоїди, лантаноїди і актиноїди.

Залежно від контексту, «важкими металами» можуть називатися навіть елементи, легші за вуглець, але не називатися деякі набагато важчі метали. Деякі джерела визначають «важкі метали» як «звичайні перехідні метали, такі як мідь, свинець і цинк, що можуть викликати забруднення довкілля з численних джерел, включаючи присутність в нафті, промислові викиди та кислотні дощі» [1]. Існує також практично синонімічний термін «токсичні метали», для якого також не існує чіткого визначення.

Важкі метали є найсильнішими за негативним впливом на живі організми і найбільш поширеними хімічними забруднювачами. Постійне потрапляння важких металів відбувається до біосфери у результаті вулканічного виверження, а також магнітної і гідротермальної активності. Проте рівень техногенного забруднення важкими металами значно більший та постійно зростає разом з розвитком промисловості [2].

Серед різноманітних забруднюючих речовин важких металів (в тому числі Меркурій, Плюмбум, Кадмій, Цинк, Арсен) та їх сполуки виділяються поширеністю та високою токсичністю, багато з них – також здатністю до накопичення в живих організмах.

Вони широко застосовуються в різних промислових виробництвах, тому, незважаючи на очисні заходи, вміст сполук важких металів у промислових стічних водах досить високий. Також вони надходять в навколишнє середовище з побутовими стоками, з димом і пилом промислових підприємств. Багато металів утворюють стійкі органічні сполуки, добра розчинність цих комплексів сприяє міграції важких металів в природних водах.

В якості критеріїв належності використовуються численні характеристики важких металів: атомна маса, густина, токсичність, поширеність у природному середовищі, ступінь залученості в природні та техногенні цикли.

Важкі метали є найсильнішими за негативним впливом на живі організми і найбільш поширеними хімічними забруднювачами. Харчові продукти і питна вода сприяють надходженню в організм майже всіх хімічних елементів, в тому числі і тих, що в певних концентраціях, є токсичними.

За токсичністю важкі метали розташовуються у такій послідовності: Меркурій, Аргентум, Купрум, Кадмій, Цинк, Плюмбум, Хром, Нікель, Кобальт [3]. Проте цей порядок може змінюватися залежно від виду організму і від того, присутні ці елементи в розчині у вигляді вільних йонів чи входять до складу органічних або неорганічних сполук.

Токсичність у відповідних концентраціях для людини проявляють Алюміній, Барій, Берилій, Кадмій, Купрум, Арсен, Нікель, Селен, Плюмбум, Аргентум, Стронцій, Меркурій, Хром. Концентрація елемента має суттєве значення, оскільки Кадмій, Купрум, Арсен, Нікель, Селен, Хром відносяться до життєво необхідних для організму людини елементів. Для нормального функціонування організму людини необхідне досягнення збалансованого обміну мікроелементів, порушення якого призводить до важких захворювань та отруєнь [4].

Найстійкішими до забруднення йонами важких металів є мікроміцети, дріжджі, деякі тіонові бактерії та патогенні мікроорганізми. Одним із пояснень стійкості мікроорганізмів до йонів металів є їх здатність акумулювати останні у клітинах. Рівень нагромадження цих йонів у клітинах мікроорганізмів може перевищувати їх вміст у середовищі в сотні разів [5].

Хром (від грецького слова «*chrōma*» (*χρῶμα*) – кольоровий) [6] – це сталєво-сірий, блискучий, твердий та крихкий метал [7], що має високу температуру плавлення.

В династії Цінь, ще 2000 років тому використовували оксид хрому для покриття металевої зброї. Виявлений у 1761 році в Західному світі червоний кристалічний мінерал крокоїт (хромат свинцю (II) хромату, хром почали називати як елемент. Спочатку використовувався як пігмент, а пізніше в 1797 році Луї Ніколя Воклен першим виділив металевий хром з мінералу.

Металічний хром та сплав ферохрому добувають з хромітів силікотермічною чи алюмінотермічною реакцією. Хром має високий корозійний опір і твердість. Також його додають при виробництві нержавіючої сталі. І цей же процес, разом з хромуванням, складають 85 % комерційного використання елемента. У великих кількостях сполуки металу можуть бути токсичними та канцерогенними. Найвідомішим прикладом токсичної сполуки є шестивалентний хром (Cr(VI)) [8].

На початок XIX ст. сполуки хрому використовувалися як вогнетривкий матеріал для футерування металургійних печей, отримання фарб і дублення шкіри. В кінці XIX ст. хром почали широко використовувати для легування сталі. Насьогодні металургійна промисловість є основним споживачем хромітів і складає (65 %), а промисловість вогнетривів (18 %) і хімічна (17 %) промисловість.

Хром є одним з основних компонентів неіржавної жароміцної, кислототривкої сталі і важливого інгредієнта корозійностійких і жароміцних суперсплавів.

Широко використовують хром та його аналоги, як легувальні добавки до спеціальних неіржавних сталей, які містять більше 10 % хрому. При меншому вмісті хрому сталь набуває значної міцності та твердості. Сплав нікелю з хромом ніхром (80 % Ni, 20 % Cr) має високу температуру плавлення, його використовують в нагрівальних елементах печей, які дають можливість досягти температури +1100 °C [9, 10, 11].

Біологічна роль хрому має важливе значення для організму людини. Має позитивний вплив на процеси кровотворення і на ферментативні системи [12, 13]. Хром бере участь у процесі травлення у складі ферменту

трипсину. Вченими було встановлено, що вилучення хрому з харчового раціону тварин приводить до підвищення у крові та сечі глюкози. Нормалізує вуглеводний обмін при додаванні його до їжі хворим на діабет. В організм людини хром потрапляє з продуктами харчування: соя, кукурудзяна та вівсяна крупи. Добова його потреба в організмі становить 5-10 мг [14, 15].

Цинк (хімічний знак – лат. *zincum*) – це хімічний елемент з атомним номером 30, а також проста речовина, що являє собою крихкий блакитно-сірий метал. За хімічними властивостями цинк близький до магнію в тому сенсі, що має ступінь окиснення +2 і валентність II у сполуках. Цинк 24-й за поширеністю хімічний елемент у земній корі. Найбільш поширений у вигляді сульфїду, його основна порода – сфалерит (цинкова обманка).

Щорічно у світі виробляється 10 мільйонів тон цинку, і здебільшого сировиною служать сірчані руди, в яких сфалерит змішаний із сульфїдами інших металів. Цинк у природі як самородний метал не зустрічається. Його добувають з поліметалічних руд, що містять 1-4 % Zn у вигляді сульфїду, а також Cu, Pb, Ag, Au, Cd, Bi. Руди збагачують селективною флотацією, отримуючи цинкові концентрати (50-60 % Zn) і одночасно свинцеві, мідні, а іноді також піритні концентрати. Цинкові концентрати обпалюють в печах в киплячому шарі, переводячи сульфїд цинку в оксид ZnO; при цьому утворюється сірчистий газ SO₂, що витрачається на виробництво сірчаної кислоти [16, 17].

Від ZnO до Zn йдуть двома шляхами. За пірометалургійним (дистиляційним) способом, обпалений концентрат піддають спіканню для збільшення зернистості і газопроникності, а потім відновлюють вугіллям або коксом при 1200-1300 °C: $ZnO + C = Zn + CO$. Утворену при цьому пару металу конденсують і розливають у форми. Відновлення спочатку проводили тільки в ретортах з обпаленої глини, що обслуговуються вручну, пізніше стали застосовувати вертикальні механізовані реторти з карборунду, потім – шахтні і дугові електропечі; з свинцево-цинкових концентратів цинк одержують в шахтних печах з дуттям.

Продуктивність цинку поступово підвищувалася, але містив до 3 % домішок, в тому числі і цінний кадмій. Дистиляційно цинк очищають ліквациєю (тобто відстоюванням рідкого металу від заліза і частини свинцю при 500 °С), досягаючи чистоти 98,7 %. Існує більш складне і дороге очищення – ректифікацію, що дає метал чистотою 99,995 % і дозволяє витягати з цинку кадмій [17].

Основний спосіб отримання цинку – електролітичний (гідрометалургійний). Обпалені концентрати обробляють сірчаною кислотою; отриманий сульфатний розчин очищають від домішок осадженням їх цинковим пилом і піддають електролізу у ваннах, щільно викладених всередині свинцем або вініпластом. На алюмінієвих катодах осідає цинк, з яких його щодоби видаляють (здирають) і плавлять в індукційних печах. Зазвичай чистота електролітного цинку 99,95 %, повнота вилучення його з концентрату (з урахуванням переробки відходів) становить 93-94 %. З відходів виробництва отримують цинковий купорос, Pb, Cu, Cd, Au, Ag, іноді також In, Ga, Ge, Tl.

Використовують цинк як антикорозійний матеріал, ним покривають вироби зі сталі та заліза (цинкування), а також як конструкційний матеріал для цинкографії анодів, використаних в електролізерах і в гальванічних елементах.

У цинкових сплавів невисока температура плавлення, добра рідкоплинність, їх можна легко обробляти різанням і тиском, зварювати і паяти. Вадами цинкових сплавів залишається: низькі механічні властивості за підвищених температур (особливо, опір повзучості), незначна корозійна стійкість в кислих і лужних середовищах, вони схильні до зміни розмірів у процесі природного старіння. Корозійна стійкість у цинкових сплавів така же, що у технічного цинку або оцинкованої сталі. Для підвищення корозійної стійкості та поліпшення зовнішнього вигляду, на поверхні виробів з цинкових сплавів наносять електрохімічним чи хімічним способами хромові, нікелеві або кадмієві захисно-декоративні та захисні покриття [17, 18, 19].

Практично у всі цинкові сплави введена домішка магнію (до 0,1 %), що, в свою чергу, підвищує розмірну стабільність литих деталей і збільшує корозійну

стійкість сплавів. Сплави також містять у невеликих кількостях свинець, олово, залізо та інші елементи.

Серед цинкових сплавів виділяють ливарні [16], деформівні й антифрикційні (підшипникові) [17], які використовують як замітники олов'янистих бронз і бабітів. Цинкові сплави застосовують в автомобіле- і вагонобудуванні, електротехнічній та приладобудівній промисловості, поліграфії тощо, і в латунях як сплав міді з цинком.

Біологічна роль цинку заключається в тому, що він є фізіологічним важким металом, і життєво необхідним елементом для людини і інших тварин [19, 20], рослин [19] і мікроорганізмів [21]. Цинк є компонентом близько 300 ферментів [22]. Частіше цинк зустрічається в білках, що є факторами транскрипції. Одна з типових цинковмістних структур, що зустрічаються в таких білках навіть отримала назву «цинковий палець» [23].

В мозку, підвищений вміст цинку спостерігається в синаптичних бульбашках. Ймовірна важлива роль йому дісталася в явищі синаптичної пластичності, а отже і в навчанні взагалі [24]. Має важливу роль у механізмах передачі імпульсу в глутаматергічних (цинкергічних) нейронах та є одним із основних механізмів розвитку глутаматної ексайтотоксичності [22]. Також відіграє важливу роль в розвитку скроневої (гіпокампальної) епілепсії, порушуючи процеси сенсibilізації та стабілізації постсинаптичної мембрани [23].

Впливає цинк на активність тропних гормонів гіпофізу, бере участь в реалізації біологічних функцій інсуліну, нормалізуючи жировий обмін. Також цинк бере участь у кровотворенні, є необхідним для нормального функціонування гіпофіза, підшлункової залози, сім'яних міхурів. Сполуки цинку використовують у медицині як лікарські засоби. В людському тілі циркулює від 2 до 4 грамів цинку, що є нормою.

Негативний вплив цинку виявляється в надлишку в організмі, що може призвести до загальної інтоксикації та мутацій ДНК.

1.2 Характеристика дріждів роду *Rhodotorula*

Дріжджі – одноклітинні еукаріотні мікроорганізми [25]. Пігменти мікроорганізмів – вторинні метаболіти, тобто вони не є речовинами, що можуть бути обов'язково присутніми у всіх мікроорганізмів. Як приклад, навіть всередині одного виду *Serratia marcescens* є пігментосинтезувальні та безпігментні штами.

Основною фізичною властивістю пігменту є здатність поглинати певні промені спектру [26, 27], що, в свою чергу, є основною діагностичною ознакою при ідентифікації пігментів [28].

Пігменти бактерій представлені різними речовинами – каротиноїдами, феназиновими похідними, меланіном тощо. Серед пігментів переважають жовті, помаранчеві і червоні каротиноїдні пігменти.

Здатність до пігментоутворення виражена у мікроорганізмів таких родів *Sarcina*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia* тощо. Ця ознака генетично детермінована, тому її використовують при визначенні виду.

Вважається, що основна функція пігментів – це захист бактерій від дії видимого світла та від природної ультрафіолетової радіації [26].

Каротиносинтезувальні дріжджі зайняли міцну позицію у сучасній біотехнології. Ще в ХХ столітті дослідники звернули увагу на каротиносинтезувальні дріжджі, представники деяких з них (*Sporobolomyces*, *Rhodospiridium*, *Rhodotorula*, *Sporidiobolus* тощо) синтезують широкий спектр каротиноїдів [29]. Каротиноїдні пігменти цих мікроорганізмів володіють високою біологічною активністю. Близько 10 % каротиноїдів є попередниками вітаміну А (ретинолу). Вони застосовуються також для лікування і профілактики багатьох захворювань. В багатьох країнах каротиноїди використовуються як добавки до харчових продуктів [30].

Рід *Rhodotorula* – це рід пігментних дріжджів, частина відділу *Basidiomycota*. По-перше, його легко ідентифікувати за характерними оранжево-червоними колоніями при вирощуванні на декстрозному агарі Сабуро (SDA). Цей характерний колір є результатом пігментів, які створюють дріжджі, щоб блокувати певні довжини хвилі світла (620–750 нм), які інакше були б шкідливими для клітини.

Рід *Rhodotorula* є звичайним мешканцем навколишнього середовища. Його можна культивувати із зразків ґрунту, води, молока, фруктового соку та повітря [31]. Він здатний видаляти надзвичайно добре азотисті сполуки з навколишнього середовища, зростаючи навіть у повітрі, яке було ретельно очищене від будь-яких забруднень фіксованим азотом. У таких умовах вміст азоту в сухій вазі *Rhodotorula* може знизитися до 1% порівняно з приблизно 14% для більшості бактерій, що ростуть у нормальних умовах [32].

Розрізняють дріжджі – досконалі (спорогенні) і недосконалі.

Спорогенні (досконалі) дріжджі належить до класу сумчастих грибів (класу *Ascomycetes*). Для аскоміцетних дріжджів властива відсутність міцелію і плодових тіл. Клітина перетворюється на сумку (аск), усередині якої формуються аскоспори. Аски можуть розвиватися в результаті злиття двох гаплоїдних клітин-гамет. Копуляційне ядро ділиться шляхом мейозу. Навколо кожного ядра концентрується цитоплазма. Вона покрита щільною оболонкою. Кількість утворених аскоспор може досягати 12 (найчастіше їх 4-8). У диплоїдних дріжджів аски утворюються безстатевим способом, з однієї клітини. Дріжджові клітини розмножуються вегетативним способом – брунькуванням, поділом або комбінованим поділом-брунькуванням, а також безстатевим і статевим способами.

Серед дріжджів-аскоміцетів найбільше практичне значення мають три родини: *Saccharomycetaceae* (сахароміцети), *Schizosaccharomycetaceae* (шизосахароміцети), *Saccharomycodaceae* (сахаромікоди).

Для виробництва кормових дріжджів застосовуються деякі представники недосконалих дріжджів.

Недосконалими їх називають тому, що розмножуються вегетативним (брунькуванням, рідше поділом) і безстатевим способом. Статевий спосіб розмноження у недосконалих дріжджів відсутній (не знайдений, або не підбрані відповідні умови).

Деякі види родів, як *Candida*, *Trichosporon*, *Rhodotorula*, *Torulopsis* застосовують для одержання кормових дріжджів на відходах харчових виробництв, гідролізатах деревини, соняшникового й рисового лушпиння, соломи, стеблин бавовнику, качанів кукурудзи та інших целюлозовмісних матеріалів, на парафінах, етанолі.

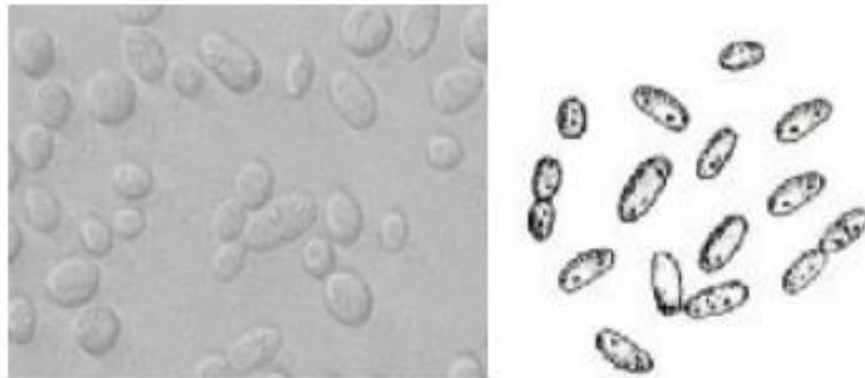


Рисунок 1.1 – Дріжджі роду *Rhodotorula*: а – світлова мікроскопія, б – графічне зображення

Рід *Rhodotorula* (рис. 1.1) має форму клітин - овальну, круглу чи трохи видовжену, паличкоподібну. Довжина клітини сягає 3-4 мкм, діаметр – 2-3 мкм, розмножуються брунькуванням. Псевдоміцелію та справжнього міцелію не утворюють. Синтезує каротиноїди, внаслідок чого колонії забарвлюються в червоний колір. Найбільш відомі такі види, як *R. rubra*, *R. flava*, *R. aurantiaes*, *R. glutinis*. Культуральними ознаками роду *Rhodotorula* є колонії жовтогарячого або червоного кольору, м'які, гладенькі блискучі, правильної круглої форми, великі та дрібні з рівними краями, консистенція пастоподібна [33, 25, 34].

1.3 Вплив ультрафіолетового випромінювання на синтез дріжджів роду *Rhodotorula*

Синтез великої кількості біотехнологічно цінних сполук дріжджами роду *Rhodotorula* дає можливість їх застосування для продукування каротиноїдних пігментів, які використовуються у багатьох галузях промисловості: фармацевтичній, хімічній, кормовій, харчовій та інших. Широке використання дріжджів цього роду зумовлене корисними властивостями цих речовин: вони є барвниками, попередниками вітаміну А, проявляють антиоксидантну, канцеропротекторну та імуномодуляторну дії [35, 36, 37]. Також дріжджі можуть синтезувати інші корисні біологічно-активні сполуки, такі як ергостерол, ліпіди, екзополісахариди.

З кожним роком попит на перераховані метаболіти зростає, що змушує шукати нові ефективні шляхи синтезу та вдосконалювати вже відомі. Тому мікробіологічний синтез сполук залишається актуальним через доступність методів отримання цінних метаболітів, а також їх високу біозасвоюваність.

Певні хімічні, фізичні та біологічні чинники діють на синтетичну активність та швидкість накопичення біомаси. Індукторами синтезу метаболітів можуть виступати попередники цінних речовин, стимулятори росту, а також мутагенні фактори. Крім того, таким фактором, який тісно пов'язаний із накопиченням каротиноїдів, є ультрафіолетове випромінювання. У клітині дріжджів *Rhodotorula* похідні ізопрену, до яких відносять β -каротин, торулін та торулародин, виконують роль фотопротекторів, тому при дії ультрафіолету їх кількість збільшується. Таким чином, впливаючи на клітини підвищеними дозами випромінювання, можна збільшити кількість синтезованих каротиноїдів [38]. За літературними даними, визначають можливість збільшення продукування інших метаболітів, зокрема ергостеролу [39]. Більшість досліджень пов'язані з використанням ультрафіолетових променів з

довжиною хвилі в діапазоні 280-315 нм, який має мутагенний вплив і несе слабший характер в порівнянні із таким у світла з коротшою хвилею.

Проведені за загальними методиками дослідження з використанням чистої культури каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis* показали, що було виявлено кореляцію синтетичної активності та приросту біомаси із поглинутою дозою випромінювання [40]. При перевищенні допустимої дози ультрафіолет проявляв цитотоксичну дію. Також було досліджено, що при дії впродовж 60 хв функціональний стан клітин мало змінюється, виживає близько 90 % клітин. Доза, отримана протягом 200 хв., є згубною для клітин. Оптимальною визначена доза, яка була отримана за 120 хв. При цьому вижило близько 20 % клітин.

Фотоколориметричним методом при довжині хвилі 540 нм було проведено оцінку накопичення біомаси. За контроль взяли штам дріжджів *Rhodotorula glutinis*, вирощений на середовищі Сабуру. Результатами дослідження було зменшення приросту біомаси у опромінену штамі приблизно в 1,5 рази. Таким чином, цей ефект пояснюється руйнуючим впливом ультрафіолетового випромінювання на деякі важливі ділянки ДНК, внаслідок чого відбувається зниження синтезу первинних метаболітів. Відмічено також певну зміну зовнішнього вигляду колоній. Вони відрізняються від контрольних яскравішим оранжевим чи рожевим забарвленням, поверхня їх із часом стає матовою. При культивуванні дослідні колонії забарвлюються в слабо-рожевий колір уже на 3 добу, тоді як зміна забарвлення контрольної групи спостерігається лише на 4-5 добу культивування.

Згідно дослідженням авторів [35], опромінення дріжджів *Rhodotorula glutinis* ультрафіолетовими променями впливає на життєдіяльність клітин та приріст біомаси культури. Тому подальшої селекції та дослідження потребують отримані змінені колонії мікроорганізмів, насамперед, це стосується їх каротинсинтезуючої активності та продукування інших факторів, здатних протидіяти стресовим чинникам.

1.4 Пігментосинтезувальні дріжджі, як біоіндикатори важких металів

Проведений дослід, порівняльного аналізу візуальної оцінки пігментонакопичення дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 та концентрації каротиноїдів у клітинах, встановив явність сильного кореляційного зв'язку. Дослідниками рекомендовано для використання у біоіндикації йонів Хрому пігментовані дріжджові культури, а саме: *Sporobolomyces roseus* Y-333, *Rh. glutinis* Y-1333, *Rh. glutinis* Y-1335, *Rh. mucilaginosa* Y-1394 та *Rh. aurantiaca* Y-1195, які проявили олігодинамічну дію в присутності Калію біхромату. Відносно пігментоутворення найбільш токсичну дію йони Хрому спричинили на дріжджі *Sp. roseus* Y-1443, які виявилися у 40 разів чутливіше, ніж *Rhodospiridium sphaerocarpum* Y-44. Повна втрата пігментів спостерігалася за концентрації Cr^{6+} у дріжджів *R sphaerocarpum* Y-44 – 200 мг/дм³.

Хром є одним із біогенних хімічних елементів, його найважливіша біологічна роль полягає в регуляції вуглеводного обміну і рівня глюкози в крові. Крім того, Хром бере участь у регуляції обміну холестерину і є активатором деяких ферментів [41].

Найбільш широке розповсюдження мають дві форми Хрому – Cr^{3+} і Cr^{6+} . Незамінну функцію в живому організмі виконує тільки тривалентний Хром. Сполуки на основі шестивалентного Хрому токсичні та канцерогенні [42, 43, 44].

Мікроорганізми, а саме дріжджі, найбільш чутливі до дії важких металів [45]. Вони здатні виводити із водних розчинів більше важких металів, ніж інші сорбенти. Візуальне спостереження за зміною яскравості пігментів за дії різних концентрацій важких металів має перевагу перед індикацією стану довкілля за допомогою фізичних і хімічних методів, внаслідок чого пігментосинтезувальних дріжджів рекомендують в очистці та біоіндикації

стічних вод. Тому доцільно було провести скринінг каротин- та пульхериміносинтезувальних дріжджів-індикаторів Cr⁶⁺.

Об'єктом дослідження слугували каротиносинтезувальні дріжджі родів *Rhodosporidium*, *Rhodotorula* та *Sporobolomyces*, а також пульхеримінові штами дріжджів роду *Metschnikowia*.

За спектрофотометричним методом визначали концентрації каротиноїдів у біомасі дріжджів використовуючи при цьому концентрацію β-каротину, торуліну та торулародіну визначали при довжині хвиль 450, 509, 537 нм [45].

Розрахунки різниці в інтенсивності кольору між дослідними і контрольними зразками проводилися у програмі CIEDE 2000 – інтенсивність кольору пігментів (dE) [46].

Результати дослідження авторів показали [47, 48], що пігментосинтезувальні дріжджі втрачали здатність до утворення пігментів із певних концентраційних рівнів йонів Хрому.

Найбільш стійкими до дії йонів Хрому виявилися культури *Rh. sphaerocarpum* Y-44 та *Rh. Diobovatum* Y-43. На ріст дріжджів *Rh. mucilaginosa* Y-1395 йони Хрому (VI) проявили у 35 разів токсичнішу дію, ніж на *Rh. sphaerocarpum* Y-44. Відносно пігментоутворення найбільш токсичну дію йони Хрому спричинили на дріжджі *Sh. roseus* Y-1443, які виявилися у 40 разів чутливіше, ніж *Rh. sphaerocarpum* Y-44.

Згідно скринінгу дріжджів, як біоіндикаторів йонів Хрому, результати виявилися для біоіндикації якості води найбільш інформативними, як індикаторні мікроорганізми, є культури *Sp. roseus* Y-333, *Rh. glutinis* Y-1333, *Rh. glutinis* Y-1335, *Rh. mucilaginosa* Y-1394 і *Rh. aurantiaca* Y-1195.

В результаті проведення порівняльного аналізу щодо впливу йонів Хрому на дріжджові клітини *Rhodosporidium*, *Metschnikowia*, *Sporobolomyces* та *Rhodotorula* можна зазначити, що рід *Rhodosporidium* виявився найбільш стійким за дії йонів Хрому, порівняно з іншими представниками пігментосинтезувальних дріжджів, проте рід *Rhodotorula* проявив

олігодинамічну дію в присутності Калію біхромату, тому є інформативним біоіндикатором йонів Хрому [47].

Згідно дослідженням Крупей К. С. [48], пігментосинтезуючі дріжджі *Rh. mucilaginosa* 1394 реагують на присутність важких металів у середовищі втратою пігменту і затримкою росту, внаслідок чого виявляється цікавим подальше їх вивчення з метою застосування в біоіндикаційних дослідженнях і виявлення вірогідних механізмів блокування синтезу пігменту під впливом стресових факторів.

Отримані результати досліджень, показали, що найбільш токсичними для *Rh. mucilaginosa* 1394 виявилися іони хрому (VI) (синтез пігменту блокувався при концентрації 10 мг/л Cr^{6+}). А стійкими виявилися відносно до іонів кадмію (II), блокування синтезу пігменту спостерігалось при концентрації 900 мг/л Cd^{2+} [48].

1.5 Біоремедіація забруднених важкими металами середовищ

Однією з найсерйозніших проблем сьогодення є забруднення навколишнього середовища іонами важких металів, що в значних концентраціях здійснюють вагомий деструктивний вплив на живі організми (мікроорганізми, рослини, тварини) [49, 50]. Очищення фізико-хімічними методами є дорогим і не завжди може забезпечити належний ступінь вилучення іонів важких металів. Тому на сьогодні проводиться пошук нових дешевих і ефективних способів для очищення забруднених середовищ.

Одним із таких сучасних методів є біоремедіація. У методах біоремедіації мікроорганізми, частіше, використовуються для вилучення іонів важких металів шляхом накопичення або адсорбції. Відома велика різноманітність біоматеріалів, біоагентів та організмів з високою здатністю поглинання іонів металів, серед яких, потенційними перспективними кандидатами можуть

слугувати дріжджі роду *Rhodotorula*, яким притаманна значна стійкість до іонів важких металів і рН середовища.

Дріжджі роду *Rhodotorula*, зокрема *R. rubra* можуть накопичувати різноманітні іони металів, особливо Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Cr^{6+} , Fe^{3+} , Hg^{2+} , Co^{2+} , Ag^{+} , Ni^{2+} й Fe^{2+} [51]. Досліджувалося порівняння можливості сорбційних властивостей дріжджів *S. cerevisiae* та *Rh. glutinis* щодо йонів важких металів (Cu^{2+} та Zn^{2+}).

Серед методик дослідження було визначити оцінку впливу важких металів на ріст дріжджів, провести підрахунок кількості життєздатних дріжджів, проаналізувати спроможності дріжджів до сорбції іонів важких металів Cu та Zn тривалим та експрес-методом [52, 53].

Кількість життєздатних дріжджів оцінювали на агаризованом середовищі Сабуро відповідно до методики [46]. Ріст культури аналізували візуально після 3-добового культивування за шкалою: – відсутність росту; 1 – слабкий ріст; 2 – помірний ріст; 3 – інтенсивний ріст.

Дані експериментальних досліджень показали, *Rh. glutinis* виявляється стійкішою до дії іонів важких металів. Підтвердженням цього є помірний ріст культури при високих концентраціях Zn^{2+} та слабкий ріст при найвищій з досліджуваних концентрацій Cu^{2+} .

Проте, *S. cerevisiae* у випадку внесення у середовище навіть нижчих з досліджуваних концентрацій проявляють ознаки помірнього росту. При високих концентраціях утворення їх колоній значно сповільнюється і оцінюється як слабке при 150 мг/л Zn^{2+} . При внесенні 310 мг/л Cu^{2+} ріст *S. cerevisiae* не виявляється.

Як відомо, досліджуваним одноклітинним дріжджам притаманна відмінна сорбційна здатність іонів важких металів із середовища, найбільш ефективнішу біосорбцію проявляють *S. cerevisiae*, вилучаючи з розчину 47 % внесених іонів Cu^{2+} за концентрації 250 мг/л та 32 % Zn^{2+} за концентрації 110 мг/л. Натомість для клітин *Rh. glutinis* відсоток біосорбції іонів цинку складає 23 % за концентрації 110 та 150 мг/л, а міді – 12 % за концентрації 310 мг/л.

З результатів авторів , виявилось, що клітини дріжджів володіють різною сорбційною активністю щодо досліджуваних іонів важких металів. *S. cerevisiae* найбільшою мірою здатні до біосорбції міді. Натомість клітини штаму *Rh. glutinis*, з обох досліджуваних металів, більшою мірою здатні до біосорбції цинку. Проте *Rh. glutinis* виявляються стійкішими до дії іонів важких металів [54].

2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкт дослідження

Дослідження проводили на базі кафедри мікробіології, вірусології і імунології в Запорізькому державному медичному університеті у 2022 році.

Матеріалом досліджень слугували синтез важких металів (Cr^{6+} і Zn^{2+}) на штами дріжджів *Rhodotorula glutinis* Y-1333 та *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394.

За контроль було взято тверде поживне середовище Сабуро без важких металів.

2.2 Методи культивування пігментосинтезувальних дріжджів

Тверде поживне середовище Сабуро готували на основі води з певним вмістом солей важких металів. Контролем слугувало поживне середовище Сабуро без солей. Після застигання середовища на нього суцільним газоном засівали 18-годинні колекційну культуру дріжджів роду *Rhodotorula* (0,2 мл на 1 чашку Петрі). Щільність суспензії становила 10^7 кл/см³. Інкубування проводили в термостаті за температури 27-28°C. На 3 добу культивування візуально проводили облік результатів.

Пігментосинтезувальну активність визначали візуально, порівнюючи дослідні зразки з контролем, за 5-тибальною системою: ріст – наявність росту культури (++++ – суцільний, +++ – добрий, ++ – помірний, + – слабкий, – – відсутній); пігментоутворення – наявність пігментації колоній (++++ – інтенсивне, +++ – добре, ++ – помірне, + – слабе, – – відсутнє, ± – наявність пігментних та безпігментних колоній).

2.3 Метод оцінки різниці інтенсивності кольору пігментів дріжджових клітин

Різницю в інтенсивності кольору контрольних та дослідних культур визначали наступним способом. Цифрову камеру закріплювали на штативі на висоті 25-30 см від об'єкта зйомки. Вмикали цифрову камеру в режимі «Макрозйомка», та робили декілька (5-7) знімків з інтервалом 30-40 секунд, щоб дати вийти пристрою із зарядним зв'язком (ПЗЗ) матриці фотокамери на стабільний режим роботи. Після цього встановлювали баланс цифрової фотокамери (ЦФК) за допомогою ручного методу. Для цього у режимі камери «Встановити баланс білого» робили знімок білого аркушу паперу. Це потрібно для подальшої вірної передачі кольору об'єктів зйомки цифровою камерою за даних умов освітлення.

Фокусну відстань та час експозиції також встановлювали вручну і тому усі важливі показники зйомки (баланс білого, фокусна відстань, час експозиції) однакові для всіх об'єктів зйомки. Після проведення вищевказаних операцій здійснювалися знімки колоній мікроорганізмів на поверхні живильного середовища у чашках Петрі. Знімки у форматі JPEG, кольоровий профіль: червоний, зелений, блакитний (RGB), розрядністю 8 біт, завантажували у комп'ютерну програму Adobe Photoshop. Зображення RGB переводили у кольорову модель CIE Lab (Меню «Зображення» → «Режим» → «Lab»). Для усунення незначного цифрового шуму в зображенні ми використовували фільтр «Розмивання за Гаусом» з параметром «Радіус», що дорівнює 20 пікселям. Отримували параметри кожного з трьох каналів: L – яскравість; а – величина червоно-зеленої складової; b – величина жовто-синьої складової (Lab). Дані ми отримували у 10 довільних точках зображення колонії мікроорганізмів. Розраховували середній показник для кожного з каналів. Порівняння кольору здійснювали з використанням формули кольорової відмінності, яка дозволяє за показниками каналів кольорової моделі CIE (кольорова модель Міжнародної

комісії з освітлення) Lab чисельно виразити відмінності між двома кольорами, та за різницею між кольорами ΔE_{ab} дослідного та контрольного зразків визначати в умовних одиницях інтенсивність пігментосинтезувальної активності мікроорганізмів. Розрахунки ΔE_{ab} проводили за допомогою електронної таблиці Excel. Таким чином, графічний редактор Adobe Photoshop дозволяє визначити відтінки для кожного первинного кольору і порівняти його у контрольних та дослідних зразках з використанням кольорової моделі CIE Lab [46].

Різницю в інтенсивності кольору розраховували між дослідними зразками і контролем [25, 46].

3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1 Вплив концентраційного ряду йонів Хрому та Цинку на інтенсивність пігментоутворення дріжджів роду *Rhodotorula*

Об'єктом дослідження були дріжджі штамів *Rhodotorula glutinis* Y-1333 та *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394.

Результати дослідження показали, що пігментосинтезувальні дріжджі втрачали здатність до утворення пігментів із певних концентраційних рівнів йонів Хрому та Цинку (табл. 3.1, 3.2).

У дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 суцільний ріст та інтенсивне пігментоутворення колоній спостерігався у контролі (без металу). Помірний ріст та добре пігментоутворення колоній спостерігався за концентрації йонів Хрому 20 мг/дм³, а за концентрації 25 і 30 мг/дм³ Cr⁶⁺ відмічався помірний ріст, та значно знижувалась пігментація колоній. Проте, за концентрації 35-40 мг/дм³ Cr⁶⁺ спостерігалась повна втрата росту та пігментоутворення колоній.

Таблиця 3.1 – Вплив Cr⁶⁺ на інтенсивність пігментоутворення дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394

Концентрація Cr ⁶⁺ , мг/дм ³	<i>Rh. mucilaginosa</i> Y-1394	
	*Р	**П
Контроль	++++	++++
20	++	+++
25	++	++
30	++	+
35	-	-
40	-	-

Примітка: *Ріст: +++++ – суцільний, +++ – добрий, ++ – помірний, + – слабкий, - – відсутній. **Пігментоутворення: +++++ – інтенсивне, +++ – добре, ++ – помірне, + – слабе, - – відсутнє, ± – наявність пігментних та безпігментних колоній.

Отже, за концентрації 20 мг/дм³ йонів Хрому культура *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 показала помірний ріст пігментуючих колоній. Проте, повна втрата росту пігментуючих колоній спостерігалась при концентрації 35-40 мг/дм³, відповідно.

Суцільний ріст та інтенсивне пігментування дріжджових колоній *Rh. glutinis* Y-1333 спостерігався у контролі (без металу). За концентрації 30 мг/дм³ йонів Цинку відмічався помірний ріст помірно пігментованих колоній. Помірний ріст і безпігментні колонії спостерігалися за концентрації 35 мг/дм³ Zn²⁺. За концентрації 40 мг/дм³ був відмічений слабкий ріст безпігментних колоній. Повна втрата росту та пігментування спостерігалася за концентрації 45-50 мг/дм³ Zn²⁺.

Таблиця 3.2 – Вплив Zn²⁺ на інтенсивність пігментування дріжджів *Rhodotorula glutinis* Y-1333

Концентрація Zn ²⁺ , мг/дм ³	<i>Rh. glutinis</i> Y-1333	
	*Р	**П
Контроль	++++	++++
30	++	++
35	++	±
40	+	±
45	-	-
50	-	-

Примітка: *Ріст: +++++ – суцільний, +++ – добрий, ++ – помірний, + – слабкий, - – відсутній. **Пігментування: +++++ – інтенсивне, +++ – добре, ++ – помірно, + – слабе, - – відсутнє, ± – наявність пігментних та безпігментних колоній.

Отже, відносно росту і пігментування культури *Rh. glutinis* Y-1333 до йонів Zn²⁺ проявили помірно слабкий ріст і помірно безпігментні колонії, а

повна втрата росту і пігментоутворення спостерігалась за концентрації 45-50 мг/дм³, відповідно.

Слід зазначити, що культура *Rh. glutinis* Y-1333 в присутності йонів Цинку при високих концентраціях проявила більш стійку дію, ніж культура *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 в присутності йонів Хрому. Проте, високі концентрації йонів Цинку (45-50 мг/дм³) показали інгібуючу дію як на ріст, так і на пігментацію колоній.

3.2 Оцінка різниці в інтенсивності кольору пігментів дріжджових клітин роду *Rhodotorula* в присутності Cr⁶⁺ та Zn²⁺

Результати проведених досліджень впливу йонів Хрому та Цинку на дріжджові клітини роду *Rhodotorula* підтвердили зростання значення різниці в інтенсивності кольору пігментів (dE) (табл. 3.3 – 3.4 та додаток Б.1, Б.2).

За концентрації 20 мг/дм³ Cr⁶⁺ у дослідних зразках спостерігався помірний ріст і добре пігментоутворення колоній дріжджів *Rh. mucilaginosa* Y-1394 (dE для зразків даної концентрації складала 17,08±0,06 ум. од.) (див. табл. 3.3, рис. 3.1).

Помірний ріст помірно пігментованих колоній відмічався за концентрації 25 і 30 мг/дм³ Cr⁶⁺ у зразках (dE для зразків для певних концентрацій складала 18,7±0,1 та 24,4±0,25 ум. од.).

Однак повна втрата росту та пігментоутворення колоній спостерігалася у зразках за концентрації 35-40 мг/дм³ Cr⁶⁺.

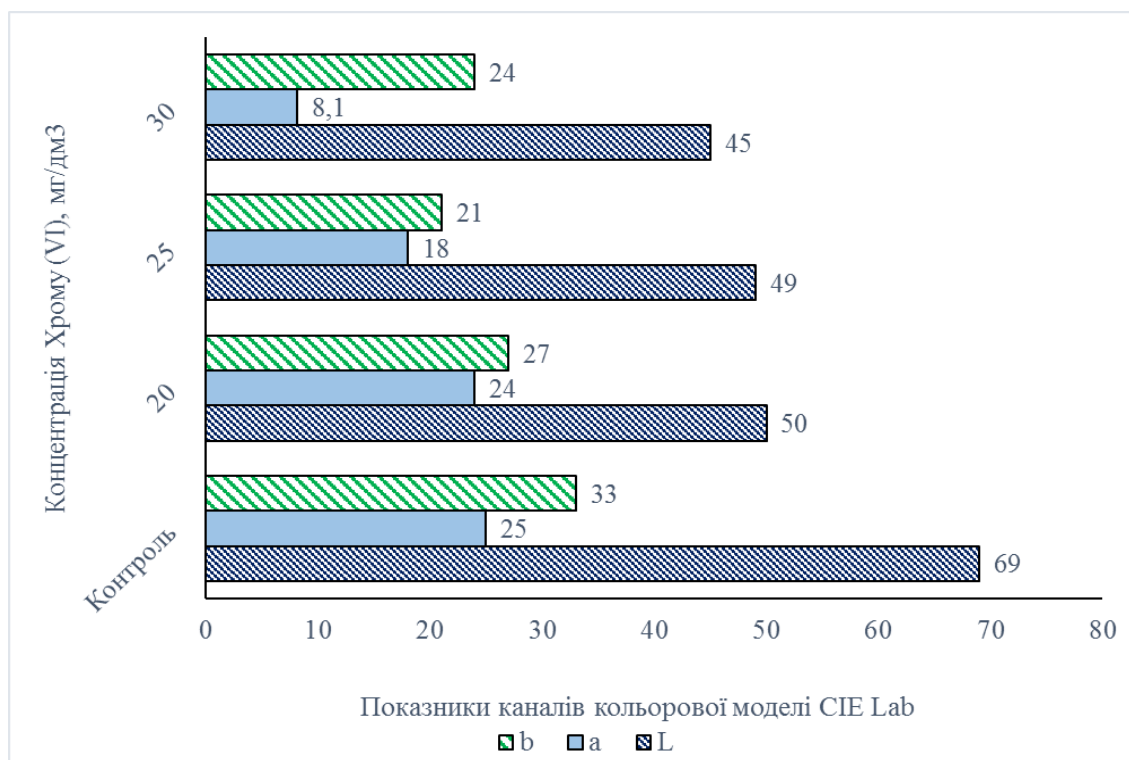


Рисунок 3.1 – Оцінка різниці в інтенсивності кольору пігментів *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 в присутності Cr⁶⁺

Згідно результатам (див. табл. 3.3), оцінка різниці в інтенсивності кольору пігментів пігментів *Rh. mucilaginosa* Y-1394 в присутності Cr⁶⁺ інгібувала ріст та пігментоутворення із певних концентраційних рівнів.

Таблиця 3.3 – Оцінка різниці в інтенсивності кольору пігментів дріжджів штаму *Rhodotorula mucilaginosa* Y-1394 в присутності Cr⁶⁺

Оцінка різниці в інтенсивності кольору пігментів <i>Rh. mucilaginosa</i> Y-1394 в присутності Cr ⁶⁺						
Концентрація Cr ⁶⁺ , мг/дм ³	Контроль	20	25	30	35	40
L	69	50	49	45	-	-
a	25	24	18	8,1	-	-
b	33	27	21	24	-	-
dE (ум. од.)		17,08±0,06	18,7±0,1	24,4±0,25	-	-

Примітка: L, a, b – показники каналів кольорової моделі CIE Lab; dE – різниця в інтенсивності кольору між контролем і дослідом, розрахована за допомогою комп'ютерної програми CIEDE 2000; $p < 0,05$.

У контрольних зразках (без металу) відмічався суцільний ріст та інтенсивне пігментоутворення. За концентрації $30 \text{ мг/дм}^3 \text{ Zn}^{2+}$ відмічено помірний ріст помірних пігментних колоній (dE для зразків даної концентрації складала $7,1 \pm 0,13$ ум. од.). Наявність пігментованих та безпігментних колоній у культурі *Rh. glutinis* Y-1333 у дослідних зразках спостерігався за концентрацій $35\text{-}40 \text{ мг/дм}^3 \text{ Zn}^{2+}$ (dE для зразків певних концентрацій складала $12,99 \pm 0,4$ та $22,97 \pm 1,02$ ум. од.) (див. табл. 3.4, рис. 3.2).

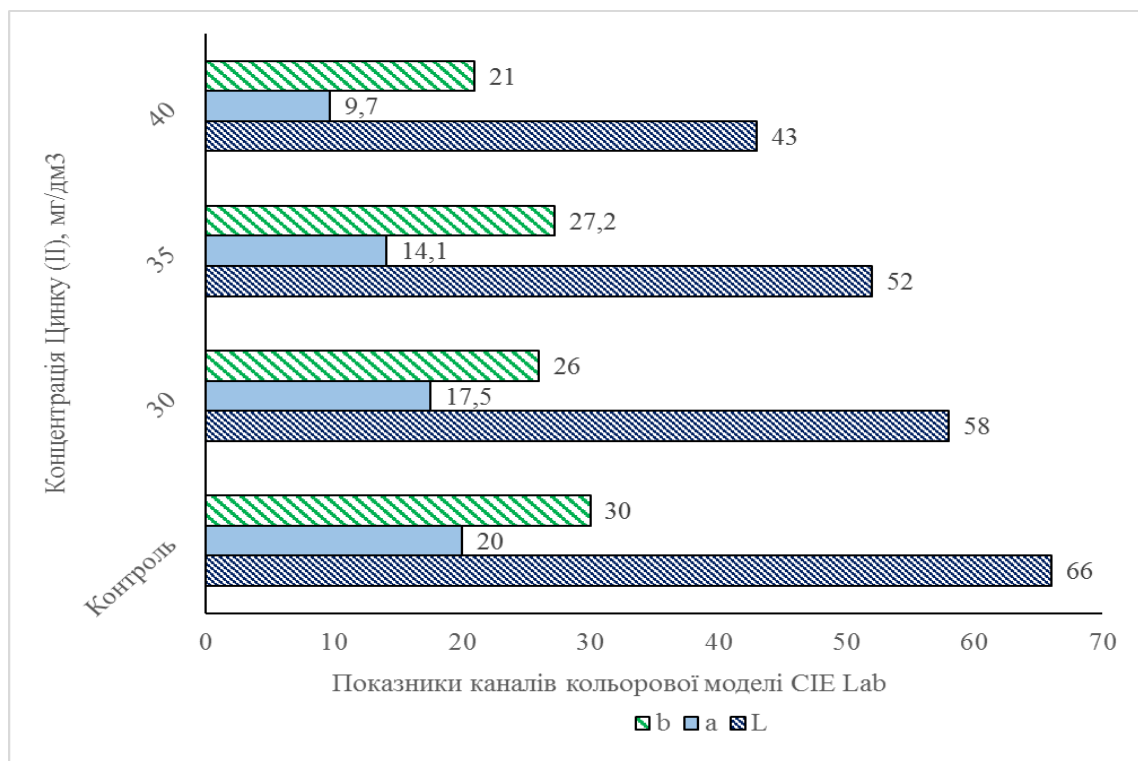


Рисунок 3.2 – Оцінка різниці в інтенсивності кольору пігментів *Rhodotorula glutinis* Y-1333 в присутності Zn^{2+}

Зокрема, повне блокування росту та пігментоутворення дріжджових клітин *Rh. glutinis* Y-1333 у дослідних зразках відбувалося у присутності в середовищі за концентрації 45-50 мг/дм³ Zn²⁺.

Як свідчать отримані дані (табл. 3.2), оцінка різниці в інтенсивності кольору пігментів *Rh. glutinis* Y-1333 в присутності Zn²⁺ мала повну відсутність до росту і утворення пігментних колоній із певних концентраційних рівнів.

Таблиця 3.4 – Оцінка різниці в інтенсивності кольору пігментів дріжджів штаму *Rhodotorula glutinis* Y-1333 в присутності Zn²⁺

Оцінка різниці в інтенсивності кольору пігментів <i>Rh. glutinis</i> Y-1333 в присутності Zn ²⁺						
Концентрація Zn ²⁺ , мг/дм ³	Контроль	30	35	40	45	50
L	66	58	52	43	-	-
a	20	17,5	14,1	9,7	-	-
b	30	26	27,2	21	-	-
dE (ум. од.)		7,1±0,13	12,99±0,4	22,97±1,02	-	-

Примітка: L, a, b – показники каналів кольорової моделі CIE Lab; dE – різниця в інтенсивності кольору між контролем і дослідом, розрахована за допомогою комп'ютерної програми CIEDE 2000; p<0,05.

Отже, за отриманими результатами проведених досліджень, виходить, що з підвищенням концентрації йонів важких металів різниця в інтенсивності кольору пігментів між контролем та дослідними зразками зростала.

Так, dE для концентрацій 35 та 40 мг/дм³ йонів Цинку дорівнювала 12,99 та 22,97 ум. од., відповідно dE для концентрацій 25 та 30 мг/дм³ йонів Хрому дорівнювала 18,7 та 24,4.

4 ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

Знання, отримані з курсів «Охорона праці» і отримані матеріали для виконання експериментальної частини я застосовувала при виконанні експериментальної частини моєї кваліфікаційної роботи, яка проводилась в лабораторії на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології.

Перед початком роботи в умовах лабораторії я була ознайомлена з загальними вимогами щодо охорони праці згідно з інструкції з охорони праці для роботи здобувачів освіти, аспірантів, лаборантів у лабораторії кафедри мікробіології, вірусології та імунології. Крім того, статистична обробка отриманих результатів вимагала роботи з комп'ютерною технікою.

Техніка безпеки в лабораторії вимагала зведення до мінімуму ризиків при виконанні експерименту. Безпека у лабораторії жотримувалася відповідно до вимог ДСТ 12.3.002-75 та інших діючих нормативних актів [55].

Відповідність санітарно–гігієнічного режиму лабораторії встановленим нормам : дотримання визначених параметрів температури (20-22°C), вологості (40-60%), освітлення, швидкість переміщення повітря згідно вимогам ДНАОП 0.03-3.15-86 [56].

Перед початком роботи в лабораторії були створені оптимальні умови мікроклімату, відповідно ДОСТ 12.1.005-88 «Загальні санітарно–гігієнічні вимоги до повітря робочої зони».

Важливе значення має створення нормальної освітленості робочого місця. Природне і штучне освітлення лабораторії відповідало вимогам СаНП 11-4-79 [57].

З метою уникнення нещасних випадків, пов'язаних з ураженням електричним струмом, до експлуатації приборів приступала після ретельного ознайомлення з паспортом та інструкцією заводу – виготовлювача.

Електропостачання приладів відбувалося від електричної мережі із глухо заземленою нейтраллю 380/220В. Заземлення електрообладнання було згідно

до ДОСТу 12.1.019-79 «Електробезпека». Загальні вимоги й номенклатура видів захисту [58].

В ході виконання експериментальної частини кваліфікаційної роботи були використанні такі індивідуальні та комплексні засоби захисту як: марлеві пов'язки, прихвати, білий х/б халат.

Правила роботи та техніка безпеки в мікробіологічній лабораторії [59]:

- в лабораторію забороняється входити у верхньому одязі та класти на столи сумки, портфелі та інші особисті речі;
- в мікробіологічній лабораторії забороняється працювати без халату, який захищає одяг від забруднення мікроорганізмами, а також перешкоджає їх поширенню за межі лабораторії;
- за мною закріплюється постійне робоче місце та мікроскоп. Робоче місце під час роботи повинно бути охайним;
- на всіх пробірках та чашках обов'язково потрібно писати назву мікроорганізму, дата його висіву, П.І.Б. та номер групи;
- протягом роботи бактеріологічні петлі, голки знезаражуються – прожарюються у полум'ї пальника. Використані шпателі, предметні та накривні скельця, піпетки переносять у циліндри з дезінфікуючим розчином;
- в разі попадання матеріалу, що досліджується, або культури мікроорганізмів на руки, стіл, халат або взуття негайно попереджується викладач і під його керівництвом (контролем) проводять дезінфекцію;
- після закінчення дослідження (заняття) робоче місце дезінфікується, матеріал та предмети, що використовувалися, здаються лаборанту та обов'язково миють руки з милом;
- результати досліджень заносяться у протокол, де записується тема заняття, задачі та коротке описання ходу роботи. При мікроскопічному дослідженні препаратів мікроорганізмів результати заносять до протоколу у вигляді малюнка з повною назвою об'єкта на латинській мові, дається його загальна характеристика. За результатами досліджень описують висновки.

Техніка безпеки при роботі зі скляним посудом включає :

- під час проведення робіт зі скляним посудом та іншими виробами зі скла в лабораторії усі працюючі повинні бути забезпечені засобами індивідуального захисту (халатами, гумовими рукавицями та фартухами) за нормами що передбачені положенням;
- використовувався тільки спеціальний хімічний посуд;
- не можна використовувати брудний посуд, або той, що має тріщини або відбиті краї;
- кінці скляних трубок і паличок, що застосовуються для розмішування розчинів та іншої мети, були попередньо оплавлені;
- термостійкий посуд використовується у більш жорстких температурних режимах, однак, різке нагрівання або охолодження з перепадом температур більше 150-200 °С може викликати розтріскування, особливо при неякісному його виготовленні;
- для змішування або розбавлення речовин, що супроводжуються виділенням теплоти, а також для нагрівання хімічних речовин слід використовувати фарфоровий або тонкостінний скляний посуд [59];
- пробірки, круглодонні колби, фарфорові чашки нагрівали на відкритому вогні, плоскодонні колби й стакани нагрівали тільки на металевому розсікачі полум'я або з застосуванням азбестової сітки;
- у робочому столі або шафі тримали тільки необхідний посуд, яким постійно користуються. Посуд у столі тримався у порядку, дрібні деталі – у неглибоких коробках в один шар на ваті. При висуванні ящиків стола посуд не вдарявся один об один.

Техніка безпеки при роботі з електричними приладами :

- для запобігання виникненню нещасних випадків, враження електричним струмом, пожеж тощо ми вивчили і виконували правила з техніки безпеки при роботі на електрообладнанні, правила виробничої санітарії й пожежної профілактики;

- відповідально ставилися до навчальної лабораторії мікробіології, вірусології і імунології та систематично слідкували за справністю електричної апаратури, яка використовувалася в роботі. При виявленні пошкоджень негайно повідомляють відповідного фахівця та контролювали своєчасний її ремонт;

- не можна користуватися несправним електроустаткуванням;

- профілактичний огляд і ремонт електроустаткування, яке використовувався в науково–дослідній роботі, робили тільки відповідні фахівці;

- у лабораторії використовували електронагрівальні прилади закритого типу та інше електричне обладнання тільки заводського виготовлення. При експлуатації користувалися паспортом та інструкцією заводу-виготовлювача;

- після закінчення експерименту подача струму негайно припиняється;

- шафи з розподільними пристроями були замкнені на замок;

- усі прилади, в яких це передбачено, було заземлення [59, 60].

Таким чином, дотримання правил техніки безпеки допомогло мені уникнути травмування під час виконання моєї кваліфікаційної роботи.

Статистична обробка проводилась на комп'ютері. Напруга живлення ПК (220 В) є небезпечною для життя людини. Тому, незважаючи на те, що в конструкції комп'ютера передбачена достатня ізоляція від струмопровідних ділянок, необхідно знати та чітко виконувати ряд правил техніки безпеки.

Забороняється:

- торкатися екрана і тильного боку дисплея, проводів живлення та заземлення, з'єднувальних кабелів;

- порушувати порядок увімкнення й вимикання апаратних блоків;

- класти на апаратуру сторонні предмети;

- працювати на комп'ютері у вологому одязі та вологими руками;

- палити в приміщенні, де знаходяться комп'ютери.

Не можна працювати на комп'ютері при недостатньому освітленні, високому рівні шуму тощо.

Під час роботи за комп'ютером потрібно дотримуватись таких правил:

- документи для роботи повинні знаходитись перед монітором, бажано на спеціальній підставці для уникнення маси непотрібних рухів очей;
- навантаження на зап'ястки рук можна зменшувати, якщо тримати їх при наборі прямо. Можна використовувати м'які підставки для зап'ястків, на яких вони будуть відпочивати в перервах між набором тексту;
- не тримайте курсор подовгу на одному місці, оскільки доведено, що очам комфортно, якщо погляд спрямований на екран трохи вниз (центр екрана нижче рівня очей на 10–29 см), оптимальна відстань між очима та екраном 50–65 см [60, 61].

ВИСНОВКИ

1. Слід зазначити, що досліджені штами дріжджів роду *Rhodotorula* виявилися стійкішими до дії іонів важких металів. Таким чином, клітини дріжджів *Rh. mucilaginosa* Y-1394 при концентраціях 35-40 мг/дм³ іонів Хрому повністю блокували пігментоутворення, тоді, як у дріжджів *Rh. glutinis* Y-1333 при таких же концентраціях в присутності іонів Цинку спостерігали помірно слабкий ріст та зниження пігментації колоній. Проте, при високих концентраціях Zn^{2+} дріжджі *Rh. glutinis* Y-1333 втрачали здатність до пігментоутворення.

2. Проведеними дослідженнями було встановлено, що блокування синтезу пігменту у дріжджів роду *Rhodotorula* настає при певних концентраціях іонів важких металів – для Cr^{6+} при концентраціях 35–40 мг/дм³ та для Zn^{2+} при концентраціях 45–50 мг/дм³.

3. З підвищенням концентрації йонів важких металів різниця в інтенсивності кольору пігментів між контролем та дослідними зразками зростала: так, dE для концентрацій 35 та 40 мг/дм³ йонів Цинку дорівнювала 12,99 та 22,97 ум. од., а dE для Хрому при концентрацій 25 та 30 мг/дм³ дорівнювала 18,7 та 24,4 ум. од., відповідно.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. При комплексному дослідженні дріжджі роду *Rhodotorula* можуть реагувати на присутність важких металів у середовищі втратою пігменту і затримкою росту, внаслідок чого виявляється цікавим подальше їх вивчення з метою застосування в біоіндикаційних дослідженнях.

2. Результати досліджень можна включати до лекційного матеріалу та лабораторних робіт таких дисциплін як «Біоіндикація та біотестування», «Промислова біотехнологія» та «Біологічні методи очистки стічних вод».

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Важкі метали. URL : https://uk.wikipedia.org/w/index.php?title=Важкі_метали&oldid=36013996
2. Жовинский Э. Я., Кураева И. В. Геохимия тяжелых металлов в почвах Украины. Киев : Наукова думка, 2002. 213 с.
3. Никитина Л. П., Никифорова Е.И. Химия, окружающая среда и здоровье: учебное пособие. Чита : ЧИПКРО, 2006. 160 с.
4. Авакян З. А. Сравнительная токсичность тяжелых металлов для некоторых микроорганизмов. Микробиология. 1967. Т. 36. С. 5-46.
5. Bruins M. R., Kapil S., Oehme F. W. Microbial resistance to metals in the environment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2000. Vol. 45. № 2. P. 198-207.
6. Авакян З. А. Токсичность тяжелых металлов для микроорганизмов. Микробиология. 1973. Т. 2. С. 7-43.
7. Brandes E. A., Greenaway H. T., Stone H. E. N. Ductility in Chromium. URL : <https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/1956Natur.178..587B> (<https://dx.doi.org/10.1038%2F178587a0>).
8. χρώμα 13 липня 2019 URL : <https://web.archive.org/web/20190713065234/http://www.perseus.tufts.edu/hopper/text?doc=Perseus%3Atext%3A1999.04.0057%3Aentry%3Dxrw%3Dma>
9. Cronin, Joseph R. The Chromium Controversy. *Alternative and Complementary Therapies*. № 10 (1). 2004. P. 39-42. URL : <https://dx.doi.org/10.1089%2F107628004772830393>
10. Kotaś J.; Stasicka Z. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. *Environmental Pollution*, № 107 (3). 2000. P. 263–283. URL : <https://dx.doi.org/10.1016%2FS0269-7491%2899%2900168-2>

11. Опейда Й, Швайка О. Глосарій термінів з хімії. Ін-т фізико-органічної хімії та вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України, Донецький національний університет. Донецьк : Вебер, 2008. 758 с.
12. Мала гірнича енциклопедія : у 3-х т. / за ред. В. С. Білецького. Донецьк : Східний видавничий дім, 2013. Т. 3. 644 с.
13. Сологуб Л. І, Антоняк Г. Л., Бабич Н.О. Хром в організмі людини і тварин. Біохімічні, імунологічні та екологічні аспекти. Львів : Євросвіт, 2007. 127 с.
14. U.S. Geological Survey Mineral commodity summaries 2020: *U.S. Geological Survey*, 2020. 200 p. URL : <https://web.archive.org/web/20200807012725/https://pubs.usgs.gov/periodicals/mcs2020/mcs2020.pdf>
15. Хром. Фармацевтична енциклопедія. URL : <https://web.archive.org/web/20160803141147/http://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/235/xrom>
16. ГОСТ 25140-93. Сплавы цинковые литейные. Марки.
17. ДСТУ 2774-94 (ГОСТ 21437-95) Сплави цинкові антифрикційні. Марки, технічні вимоги та методи випробувань.
18. Prasad A. S. Zinc in Human Health: Effect of Zinc on Immune Cells. 2008. URL : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2277319>
19. Broadley M. R., White P. J., Hammond J. P., Zelko I. Zinc in plants. 2007. URL : <https://dx.doi.org/10.1111%2Fj.1469-8137.2007.01996.x>
20. Sugarman B Zinc and infection. 1983. URL : <https://dx.doi.org/10.1093%2Fclinids%2F5.1.137>).
21. The Essential Toxin: Impact of Zinc on Human Health URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2872358/>
22. Takeda Atsushi Insight into glutamate excitotoxicity from synaptic zinc homeostasis. *International Journal of Alzheimer's Disease*. 2011. P. 491-597.

23. Kuchkovsky O. M. Метаболізм металів у гіпокампі та роль цинку в патогенезі епілептиформних судом. *Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytsky Melitopol State Pedagogical University*, № 6 (2). 2016. P. 34–44.

24. Цинк та його функції. URL : <https://biovit.ua/ua/news/mineraly-statii/cink-odin-iz-vazhnejshih-mikroelementom-dlya-vsekh-form-zhizni>

25. Мікробіологія харчових продуктів : лабораторний практикум для студ. напряму підготовки 6.051701 «Харчові технології та інженерія» ден. та заоч. форм навчання /уклад.: С. М. Тетеріна, Н. М. Грегірчак. Київ : НУХТ, 2013. 97 с.

26. Никитюк В. Г. Каротиноиды и их значение в живой природе и для человека. *Провизор*. 1999. № 6. 18 с.

27. Joshi V K. Microbial Pigments. *Indian J. of Biotechnol.* 2003. Vol. 2. P. 362–369.

28. Смирнов В. В., Киприанов Е. А. Бактерии рода *Pseudomonas*. Киев : Наукова думка, 1990. 262 с.

29. Квасников Е. И., Васкивнюк В. Т., Суденко В. И. Каротинсинтезирующие дрожжи. Киев : Наукова думка, 1980. 171 с.

30. Кирица Е. Направленный синтез каротиноидов у дрожжей и перспектива их использования: дис. ... доктора биологии : 03.00.23. Кишинев, 2005. 129 с.

31. Wirth F., Goldani L.Z. Epidemiology of *Rhodotorula*: an emerging pathogen. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*. 2012. P. 465-717.

32. Postgate John The Outer Reaches of Life *Cambridge University Press*, 1994. P. 132-134.

33. *Rhodotorula*. URL : <https://archive.today/20130414140258/http://www.doctorfungus.org/thefungi/rhodotorula.php>.

34. Біологія клітин : лабораторний практикум для студ. напряму підготовки 6.051401 «Біотехнологія» ден. та заоч. форм навчання / уклад.: В. О. Красінько, І. М. Волошина. Київ : НУХТ, 2014. 147 с.

35. Краєвська І. М., Васіна Л. М. Вплив ультрафіолетового випромінювання на життєдіяльність дріжджів роду *Rhodotorula*. Інститут біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Ю. Федьковича *Сучасні проблеми генетики, екології та біотехнології*. 2016. 4 с.

36. Frengova G. I., Beshkova D. M. Carotenoids from *Rhodotorula* and *Phaffia*: yeasts of biotechnological importance. *Microbiol. Biotechnol*, № 36. 2009. P. 163-185.

37. Marova I, Certik M. and Breierova E. Production of enriched biomass by carotenogenic yeasts-application of whole-cell yeast biomass to production of pigments and other lipid compounds. *Biomass detection, production and usage*. 2011. P. 480-496.

38. Photoprotection by carotenoid pigments in the yeast *Rhodotorula mucilaginosa*: the role of torularhodin / M. Moline et al. *Photochem. Photobiol. Sci*, № 10. 2010. P. 1145-1151.

39. Moline M., Libkind D, M. van Broock Production of Torularhodin, Torulene, and b-Carotene by *Rhodotorula* Yeasts. *Microbial Carotenoids From Fungi*. № 898. 2012. P. 275-283.

40. Tolerance to ultraviolet radiation of psychrotolerant yeasts and analysis of their Carotenoid, Mycosporine, and Ergosterol content / P. Villarreal¹, Mario Carrasco¹ et. al. *Curr Microbiol*, № 72. 2016. P. 94-101.

41. Бессонова В. П., Иванченко О. Е. Хром в окружающей среде. *Питання біоіндикації та екології*. Запоріжжя: ЗНУ, 2011. Вип. 16, № 1. С. 13-29.

42. Квасников В. И. Биологическая очистка хромсодержащих промышленных сточных вод. Київ : Наукова думка, 1990. 112 с.

43. Лозовая О. Г. Касаткина Т. П., Подгорский В. С. Поиск биосорбентов тяжелых металлов среди дрожжей различных таксономических групп. *Мікробіол. журн.* 2004. Т. 66, № 2. С. 92-101.

44. Оказова З. П. Использование микроорганизмов в качестве биоиндикаторов загрязнения окружающей среды. *Современные проблемы науки и образования.* 2015. № 5. С. 5-12.

45. Рильський О. Ф. Наукове обґрунтування прокаріотичної біоіндикації забруднення важкими металами природного середовища: дис. ... доктора біол. наук : 03.00.16. Київ, 2011. 351 с.

46. Спосіб визначення інтенсивності пігментоутворення у бактерій: пат. на корисну модель 49812 Україна, МПК (2009), С12Q 1/00, С12М 1/00, С12М 1/34. № u200912311; заявл. 30.11.2009; опубл. 11.05.2010, Бюл. №9, 2010 р.

47. Валерченко Ю. В., Крупей К. С. Скринінг пігментосинтезувальних дріжджів – біоіндикаторів йонів Хрому (VI). *Питання біоіндикації та екології.* Вип. 23, № 1. Запоріжжя: ЗНУ: 2018. 13 с.

48. Крупей К. С. Дріжджі *Rhodotorula mucilaginosa* 1394 – біоіндикатори забруднення довкілля важкими металами. *Питання біоіндикації та екології.* Запоріжжя: ЗНУ, 2014. Вип. 19, № 1. С. 226-235

49. Воронка М. В., Васіна Л. М. Біоремедіація забруднених важкими металами середовищ методом сорбції дріжджами роду *Saccharomyces* та роду *Rhodotorula* IV *Международная научно-практическая конференция «Экологические проблемы окружающей среды и рационального природопользования в контексте устойчивого развития»* посвящена памяти д. сел.хоз. н., проф. Пилипенко Юрия Владимировича 21–22 жовтня 2021 року. Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича. Інститут біології, хімії та біоресурсів. С. 339-342.

50. Chu D. Effects of heavy metals on soil microbial community. *Earth and Environmental Science*, Vol. 113. 2018. P. 1-5.
51. Нечитайло Л. Я. Вміст кадмію і цинку в екосистемі Прикарпаття та вплив кадмієвої інтоксикації на мікроелементний статус організму експериментальних тварин. *Медична та клінічна хімія*. Т. 20. № 4. 2018. С. 60-65.
52. Білоіваненко С. О., Бухтіяров А. Є. Резистентність *Rhodotorula rubra* g2/1 до важких металів та їх адсорбція. *Мікробіологія і біотехнологія*. № 1. 2013. С. 81-88.
53. Давидова Е. Г. О природе сорбции металлов клеточными стенками дрожжей. *Микробиология*. Т. 61, № 6. 2002. С. 1018-1022.
54. Карпенко Ю. В. Біотехнологія магнітомічення дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* як біосорбенту катію. *IV Міжнародна науково-практична конференція «Екологічні проблеми навколишнього середовища та раціонального природокористування в контексті сталого розвитку»* до дня пам'яті д. с./г. н., проф. Пилипенка Юрія Володимировича 21–22 жовтня 2021 року. Херсонський державний аграрно-економічний університет Факультет рибного господарства та природокористування Кафедра екології та сталого розвитку імені професора Ю.В. Пилипенка. С. 335-337.
55. Кучерявий В. О. Охорона праці. Львів : Ороїяна-Нова, 2007. 368 с.
56. Керб Л. П. Основи охорони праці. Київ : КНЕУ, 2006. 216 с.
57. Кодекс законів про працю України: за станом на 22 квіт. 2008 р. Київ : Парлам. вид-во, 2008 р. 75 с.
58. ДСТУ 2293-99. Охорона праці. Терміни та визначення основних понять. Київ : Держстандарт України, 1999. 22 с. (Національний стандарт України).
59. Кузнєцов В. А. Пожежна безпека. Харків : Фактор, 2008. 575 с.

60. Ткачук К. Н., Халімовський М. О., Зацарний В. В. Охорона праці та промислова безпека: навчальний посібник. Київ : Основа, 2006. 448 с.

61. Савчук О. М. Основи охорони праці : конспект лекцій. Запоріжжя : Просвіта, 2001. 57 с.

ДОДАТКИ

Додаток А

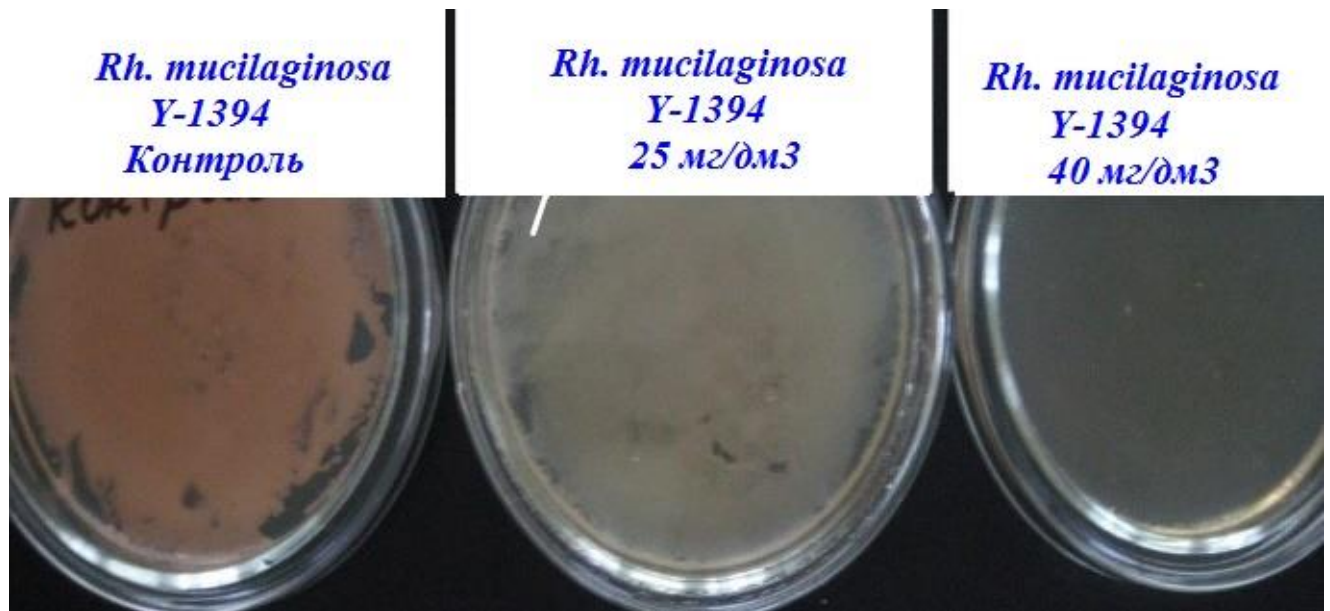
Музейні культури дріжджів роду *Rhodotorula*

(широ надано лабораторією мікробіології та біофізики кафедри загальної та прикладної екології і зоології ЗНУ)



Додаток Б.1

Вплив Cr^{6+} на інтенсивність пігментоутворення *Rh. mucilaginosa* Y-1394



Додаток Б.2

Вплив Zn^{2+} на інтенсивність пігментоутворення *Rh. glutinis* Y-1333

