

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ЮРІЯ ФЕДЬКОВИЧА**

**Навчально-науковий інститут біології, хімії та біоресурсів  
Кафедра біохімії та біотехнології**

**АДАПТИВНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ЦІАНОБАКТЕРІЙ РОДУ *NOSTOC* ДО  
ЗАБРУДНЕНЬ БІСФЕНОЛОМ А ВОДНИХ ЕКОСИСТЕМ**

**Кваліфікаційна робота**

**Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)**

*Виконала:*

студентка 4 курсу, групи 407  
спеціальність

162 Біотехнології та біоінженерія  
**Сохацька Христина Юріївна**

*Керівник:*

Кандидат біологічних наук, доцент  
**Чебан Лариса Миколаївна**

*До захисту допущено  
на засіданні кафедри*

*протокол № \_\_\_\_\_ від \_\_\_\_\_ 2025 р.*

*Зав. кафедрою \_\_\_\_\_ доц. Волощук О.М.*

**Чернівці – 2025**

## **Анотація**

*У роботі проведено дослідження впливу бісфенолу А на культури ціанобактерій *Nostoc linckia* і *Nostoc commune*. Змодельовали умови забруднення та проаналізували потенціал цих мікроорганізмів до біодеградації бісфенолу А. Дослідили та порівняли зміни ростової активності, біохімічний склад та ферментативну активність представників роду *Nostoc*. Встановлено, що *N. commune* та *N. linckia* здатні адаптуватися до присутності бісфенолу А. Наявність полютанту може провокувати «цвітіння» водойм.*

**Ключові слова:** *Nostoc linckia, Nostoc commune, бісфенол А, активність антиоксидантних ферментів, біохімічний склад біомаси, ростова активність*

## **Abstract**

*The study examined the effect of bisphenol A on the cultures of cyanobacteria *Nostoc linckia* and *Nostoc commune*. Environmental pollution conditions were simulated to analyze the potential of these microorganisms for bisphenol A biodegradation. Changes in growth activity, biochemical composition, and enzymatic activity of *Nostoc* species were investigated and compared. It has been established that *Nostoc commune* and *Nostoc linckia* are capable of adapting to the presence of bisphenol A. The presence of this pollutant may act as an additional factor contributing to algal bloom development in aquatic ecosystems.*

**Keywords:** *Nostoc linckia, Nostoc commune, bisphenol A, antioxidant enzyme activity, biochemical composition of biomass, growth activity*

Кваліфікаційна робота містить результати власних досліджень.  
Використання ідей, результатів і текстів наукових досліджень інших автор  
мають посилання на відповідне джерело.

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП</b> .....	5
<b>РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ</b> .....	6
1.1. Властивості бісфенолу А та його вплив на водне середовище.....	7
1.2. Реакція водоростей та ціанобактерій на присутність бісфенолу А.....	11
1.3. Індукований бісфенолом А оксидативний стрес та антиоксидантна відповідь ціанобактерій.....	13
1.4. Ціанобактерії роду <i>Nostoc</i> як біологічні агенти у екобіотехнології.....	16
<b>РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ</b> .....	19
2.1. Матеріали дослідження.....	20
2.2. Умови дослідження.....	21
2.3. Методи дослідження.....	22
2.4. Статистична обробка результатів.....	27
<b>РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ</b>	26
3.1. Аналіз ростової активності та біохімічного складу ціанобактерій <i>N. linckia</i> і <i>N. commune</i> .....	28
3.2. Визначення активності ферментів антиоксидантного захисту.....	35
<b>ВИСНОВКИ</b> .....	42
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ</b> .....	43
<b>ДОДАТКИ</b> .....	49

## ВСТУП

Зважаючи на високий рівень хімічного забруднення навколишнього середовища все більшого розголосу набувають питання впливу бісфенолу А на довкілля. Цей полютант є одним з найпоширеніших ксенобіотиків антропогенного походження, який негативно впливає як на водну екосистему в цілому, так і на окремі її частини, зокрема ціанобактерії. Саме ці мікроорганізми складають основу харчового ланцюга та є джерелом живлення для багатьох гідробіонтів [1].

Бісфенол А [БФА; 2,2-біс(4-гідроксифеніл)пропан] – синтетична органічна сполука, яка отримується шляхом кислотнокаталізованого алкілювання ацетону та фенолу та слугує сировиною для виготовлення епоксидних та фенольних смол, полікарбонатів, поліакрилатів, поліефірів та лакових покриттів. У результаті промислової діяльності й людської недбалості він потрапляє у навколишнє середовище та виявляється повсюдно. У водоймах полютант зустрічається в концентраціях від декількох нанограм на літр, до кількох міліграм на літр, зумовлюючи як фонове забруднення, так і сильне токсичне навантаження на гідробіоценози [2].

Водорості та ціанобактерії є першими організмами, які реагують на надходження полютантів у водні екосистеми. Вони здатні як акумулювати забруднювачі, передаючи їх далі по харчових ланцюгах, так і брати участь у розкладанні полютантів.

Ціанобактерії, як основні автотрофні продуценти органічних речовин в прісноводних екосистемах, відіграють ключову роль. Наявність у воді ксенобіотиків, наприклад бісфенолу А, може провокувати або посилювати небажані екологічні явища, такі як «цвітіння» води, що порушує стабільність екосистем та знижує якість водних ресурсів [3].

*Nostoc commune* – широко поширений вид, здатний до виживання в екстремальних умовах, тоді як *N. linckia* є чутливішим і менш стійким до змін середовища, що може зумовити різну стратегію антиоксидантної

відповіді на бісфенол А. Таким чином, дослідження обох видів дає змогу не лише оцінити ступінь стресової реакції, а й зробити припущення про адаптивні можливості кожного таксона в умовах ксенобіотичного навантаження.[4]

Метою роботи була оцінка ростової активності, біохімічного складу біомаси та змін активності ферментів антиоксидантного захисту ціанобактерії *Nostoc linckia* і *Nostoc commune* за присутності бісфенолу А.

Для досягнення поставленої мети передбачено виконання наступних завдань:

1. Змодельовати експериментальні умови, що відповідають забрудненню води бісфенолом А;
2. Прослідкувати вплив поллютанту на ростову активність культур ціанобактерій;
3. Визначити вміст білків та ліпідів для оцінки загального впливу бісфенолу А на метаболізм ціанобактерій;
4. Визначити кількість хлорофілу А та каротиноїдів для оцінки впливу бісфенолу А на фотосистему ціанобактерій;
5. Проаналізувати показники каталазної, пероксидазної та супероксиддисмутазної активності для оцінки антиоксидантного захисту ціанобактерій у присутності бісфенолу А.

# РОЗДІЛ І.

## ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Властивості бісфенолу А та його вплив на водне середовище

Бісфенол А (ВРА, БФА; 2,2-біс(4-гідроксифеніл)пропан; реєстраційний номер CAS 80-05-7) – це синтетична органічна сполука, що складається з двох фенольних кілець, з'єднаних через центральний атом вуглецю, до якого приєднані дві метильні групи. У пара-положенні на кожному з фенольних кілець розташовані гідроксильні (-ОН) групи. Така структура надає бісфенолу А естрогеноподібні властивості, що дозволяє йому взаємодіяти з ендокринною системою організмів [40]. Основні фізико-хімічні властивості бісфенолу А подані в таблиці 1.1.

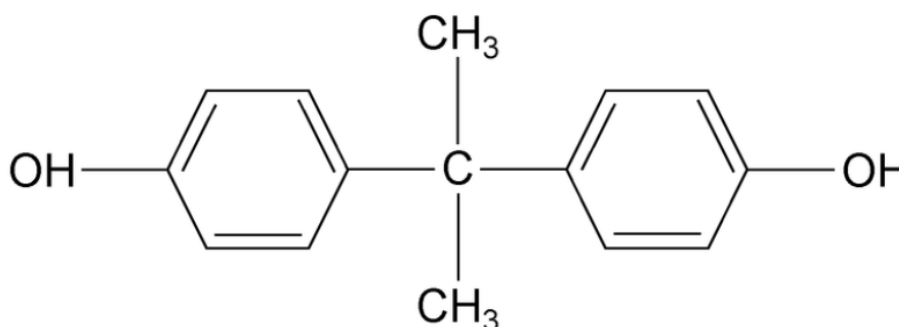


Рис. 1.1. Хімічна формула бісфенолу А [5].

Традиційно бісфенол А синтезується шляхом кислотного-каталізованої конденсації фенолу з ацетоном у співвідношенні 2:1. У присутності сильного кислотного каталізатора відбувається утворення досліджуваної сполуки з виділенням води як побічного продукту.

З огляду на екологічні проблеми та пов'язані зі здоров'ям ризики, які з'являються уже на початковому етапі виробництва, здійснюється пошук альтернативних методів його синтезу. Перспективним є варіант, який включає безкаталізаторне декарбоксилювання, що дозволяє отримувати бісфеноли з біомаси і зменшує залежність від нафтохімічних джерел [6].

Таблиця 1.1.

## Опис основних фізико-хімічних характеристик бісфенолу А [7].

Молекулярна формула	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>
Молекулярна маса	228.287
Густина	1,14-1,195 г/мл при 20 °С-25 °С
Постійна дисоціації, рКа	10.29 ± 0.69
Розчинність	120-300 мг/л при 25 °С у воді та більшій розчинності у водних лужних розчинах, спирті та ацетоні
Константа Генрі Лоу	4,0 × 10 <sup>-11</sup> атм-куб м/моль при 25°С (приблизно)
Температура кипіння	360,5 °С при 760 мм рт.
Температура плавлення	153°С
Критична температура і тиск	Температура: 849 К; тиск: 2,93 × 10 <sup>6</sup> Па (приблизно)
Теплота згоряння	-7,465 Дж/кмоль (приблизно)
Постійна швидкість реакції гідроксильних радикалів	8,1 × 10 <sup>-11</sup> см <sup>3</sup> /molec-sec при 25°С (приблизно)
Тиск пари	4,0 × 10 <sup>-8</sup> мм рт.ст. при 25°С
Колір і форма	Кристалічні пластівці від білого до кремового кольору; кристалізується у вигляді призм в оцтовій кислоті і у вигляді голок у воді
Запах	М'який фенольний запах
Період напіввиведення, днів	38 (вода), 75 (грунт), 340 (осад) і 0,2 (повітря)

Бісфенол А – це хімічна сполука, яка широко застосовується в промисловості для виробництва синтетичних полімерів, полікарбонатних пляшок, іграшок, медичних виробів, посуду та пластикових контейнерів. Усі ці предмети можуть виділяти бісфенол А вже при кімнатній температурі та при потраплянні прямих сонячних променів [8]. Через масштабне використання продуктів, які містять бісфенол, він у великій кількості потрапляє в навколишнє середовище, підвищуючи екотоксикологічну небезпеку. Цей ксенобіотик вивільняється не лише під час виробництва, але й при експлуатації та особливо утилізації виробів, у результаті чого полютант

здатний потрапляти в організм людини. Основним шляхом надходження бісфенолу А є споживання забруднених продуктів харчування та питної води, проте також можливе проникнення через шкіру, органи дихання, а у випадку вагітних жінок спостерігалася вертикальна передача до плода.

Досліджуваний поллютант класифікується як ксеноестроген – речовина, яка схожа за дією на природні гормони. У бісфенолу А є здатність спричиняти генотоксичність, цитотоксичність, канцерогенні та мутагенні ефекти. Також він є ендокринним деструктором, тобто здійснює негативний вплив на ендокринну систему. Проведені дослідження показують, що бісфенол А виявляє не тільки естрогеноподібну, а й антиандрогенну активність, що і викликає пошкодження різних систем організму – репродуктивної, нейроендокринної та імунної [9].

Регулярне та надмірне надходження цього ксенобіотика в організм людини призводить до підвищеного ризику розвитку патологій: безпліддя у представників обох статей, передчасне статеве дозрівання, гормонозалежні пухлини, різного роду метаболічні порушення (наприклад, синдром полікістозу яєчників) [10].

З огляду на зростаючу загрозу, яку становить бісфенол А, необхідними є постійний моніторинг його біоаккумуляції в організмах та дослідження шляхів мінімізації впливу цієї сполуки. Сучасна наука активно працює над розробкою методів виявлення поллютанту у навколишньому середовищі, а також над створенням ефективних технологій його знешкодження [8]. У таблиці 1.2. наведено найбільші джерела надходження бісфенолу А та його концентрації в навколишньому середовищі. У цьому контексті актуальним є вивчення нових підходів до детоксикації бісфенолу А, зокрема із залученням мікроорганізмів, що можуть бути використані для його біодеградації.

Таблиця 1.2.

**Ілюстрація найбільших джерел надходження бісфенолу А та його концентрації у навколишньому середовищі, їжі, напоях, упаковках та з інших джерел [11]**

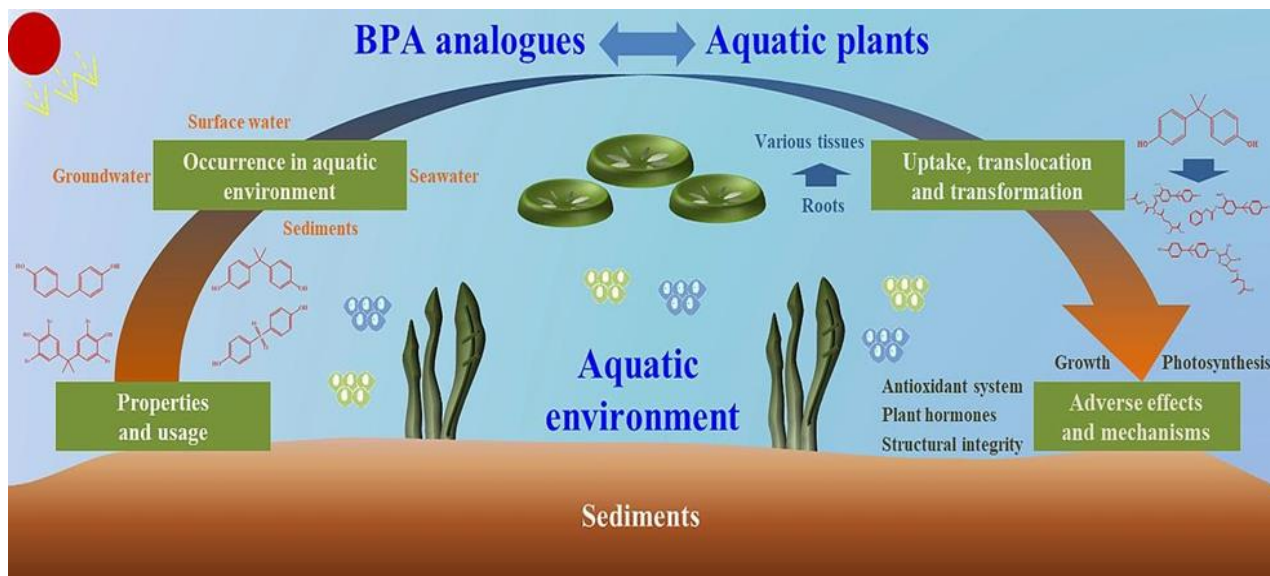
<b>Джерела забруднення ВРА</b>	<b>Концентрація ВРА (діапазон)</b>
Водне середовище	8–21 нг/мл
Повітря	2–208 нг/м <sup>3</sup>
Пил	0,8–10 мкг/г
Термопапір	54–79 мкг/см <sup>2</sup>
М'ясо	17–602 нг/г
Риба	5–109 нг/г
Овочі та фрукти	9–76 нг/г
Напої	1–18 нг/г
Молочні продукти	21–43 нг/г
Дитячі суміші	0,1–13 нг/г
Банки	2–82 ppb
Пластмаси	0,2–26 ppb
Стоматологічні матеріали	0,013–30 мг

*ppb частин на мільярд*

Бісфенол А є поширеним забруднювачем водних екосистем, що потрапляє у довкілля через стічні води промислових підприємств, побутові відходи та у результаті розкладання пластикових виробів. Концентрації політванту у воді можуть сягати від кількох нг/л до мг/л. Шляхи потрапляння бісфенолу А у водне середовище та його вплив на водорості проілюстровані на рисунку 1.1.

Хоча очисні споруди здатні видаляти 91-98% забруднювача, слідові кількості все ж потрапляють у навколишнє середовище, де можуть накопичуватися в осаді та впливати на водні організми – призводити до

порушень розвитку та поведінки у риб, молюсків та спричинити загальний негативний вплив [12]. Крім того, дослідження показують, що бісфенол А також здатний викликати оксидативний стрес у водоростей та ціанобактерій, порушуючи фотосинтез та ростову активність.



**Рис. 1.2. Шляхи потрапляння бісфенолу А у водне середовище та його вплив на водорості [13]**

Отже, бісфенол А є стійким, поширеним у довкіллі ксенобіотиком, який легко потрапляє у водні екосистеми через скиди побутових та промислових відходів. Його хімічна стабільність та здатність акумулюватися у живих організмах спричиняють порушення фізіологічних процесів у водних організмів. Це підтверджує необхідність глибшого вивчення механізму впливу бісфенолу А на водні організми.

## **1.2. Реакція водоростей та ціанобактерій на присутність бісфенолу А**

Відомо, що бісфенол А, потрапляючи у водне середовище, здатен чинити токсичний вплив на водорості, що проявляється у пригніченні росту, зміні морфології клітин та порушенні фізіологічних процесів. Спостерігається зниження швидкості поділу клітин, зменшення вмісту фотосинтетичних пігментів та порушення функціонування фотосистем. Ці

ефекти можуть варіюватися від виду ціанобактерій і концентрації бісфенолу А у воді.

У результаті дослідів з'ясовано, що концентрація бісфенолу А, яка викликає 50% інгібування росту ( $EC_{50}$ ), залежно від виду ціанобактерій, коливається в межах від 1 мг/л до 100 мг/л. Наприклад, для *Chlorella vulgaris* така концентрація становить приблизно 42,5 мг/л [14], тоді як для *Scenedesmus quadricauda* – близько 13,2 мг/л [15], що свідчить про більшу чутливість деяких видів до досліджуваного поллютанту.

Згідно з Директивою ЄС 93/67/ЕЕС бісфенол А класифікується як токсичний та шкідливий для водоростей у концентраціях від 1 мг/л до 100 мг/л [16]. Це підтверджує необхідність контролю рівню цього поллютанту у водних екосистемах та пошуку ефективних методів його видалення або нейтралізації.

Найчастіше у відповідь на дію ксенобіотика спостерігається пригнічення росту ціанобактерій – цей параметр вважається одним із ключових індикаторів у екотоксикологічних дослідженнях. Зростання водоростей легко піддається кількісному аналізу та загалом відображає загальний ефект токсиканта на мікроорганізм. Однак у деяких випадках показник росту може бути менш чутливим і не демонструвати дозозалежної реакції, навіть якщо інші параметри зазнають значних змін. Пригнічення ростової активності зафіксовано для багатьох видів ціанобактерій, а ступінь ефекту значно варіюється [17].

Основними мішенями дії бісфенолу А є білки, ліпіди, а також фотосинтетичні пігменти – хлорофіл а та каротиноїди. В умовах дії поллютанту в клітинах активується окиснювальні процеси, що супроводжується накопиченням активних форм кисню (АФК), здатних пошкоджувати білки шляхом окиснення їх функціональних груп і зміни конформації. Зокрема, у *Microcystis aeruginosa* було виявлено зміну експресії білків, залучених до фотосинтезу, синтезу білка та ліпідного обміну. Ліпіди, особливо поліненасичені жирні кислоти клітинних мембран, також зазнають

окисного пошкодження: відзначено зростання рівня малонового діальдегіду – маркера перокисного окиснення ліпідів, що свідчить про втрату мембранної цілісності. У фотосинтетичному апараті бісфенол А знижує вміст хлорофілу а, що негативно впливає на ефективність фотосинтезу та свідчить про пошкодження або пригнічення його біосинтезу. Водночас зменшується рівень каротиноїдів – ключових пігментів, що беруть участь у фотозахисті та детоксикації АФК, через що клітини стають більш вразливими до дії світла [18].

Загалом, вплив бісфенолу А на ціанобактерії є комплексним: він призводить до окисних ушкоджень макромолекул і пригнічення фотосинтетичної активності, що в підсумку може знижувати життєздатність та екологічну роль цих мікроорганізмів у водних екосистемах.

### **1.3. Індукований бісфенолом А окисдаивний стрес та антиоксидантна відповідь ціанобактерій**

Різноманітні абіотичні фактори довкілля можуть негативно впливати на живі організми, зокрема шляхом викликання окисного стресу, який виникає внаслідок надмірного утворення активних форм кисню (АФК), зокрема гідроксильних радикалів (ОН), су пероксид-аніонів ( $O_2^-$ ) та пероксиду водню ( $H_2O_2$ )[19]. Ці форми зазвичай утворюються як побічні продукти клітинного дихання за наявності кисню. У контрольованих кількостях АФК не шкодять, а іноді навіть беруть участь у клітинній сигналізації та регуляції фізіологічних процесів [20].

Проте при дії токсикантів чи інших стресових чинників вироблення активних форм кисню зростає в наслідок змін у метаболізмі. Зокрема, порушення перенесення електронів між фотосистемами II і I в хлоропластах може додатково сприяти нагромадженню АФК. Надлишок здатен пошкоджувати важливі молекули – білки, ліпіди й нуклеїнові кислоти, що в підсумку призводить до руйнування клітинних структур та дестабілізації

фізіологічних функцій [21]. Оцінити ступінь окисного стресу можна шляхом прямого вимірювання концентрації активних форм кисню або визначення підвищення активності антиоксидантних ферментів у клітині.

Для боротьби з оксидативним стресом живі організми сформували спеціальні захисні системи, які включають ферментативні та неферментативні антиоксиданти. До таких засобів належать ферменти супероксиддисмутаза, пероксидаза, каталаза, глутатіон-S-трансфераза, а також низка низькомолекулярних сполук, зокрема аскорбінова кислота. Вони нейтралізують надмірну кількість активних форм кисню, тим самим зменшуючи ризик пошкодження клітинних структур.

Супероксиддисмутаза (КФ 1.15.1.1) – фермент, який відповідає за первинний захист – він знешкоджує супероксид-аніони, розщеплюючи їх на молекулярний кисень та пероксид водню. Наступним етапом діє каталаза (КФ 1.11.1.6), яка каталізує перетворення отриманого пероксиду водню на молекулярний кисень і воду. Цей фермент локалізується в пероксисомах і мітохондріях [2235].

Пероксидази (КФ 1.11.1.7) – це група ферментів, які нейтралізують активні форми кисню, зокрема перекис водню та органічні гідропероксиди. Вони каналізують реакції, у яких перекиси окислюють різні субстрати, використовуючи електронні донори, такі як аскорбат. Аскорбатпероксидаза (КФ 1.11.1.11) важлива для усунення пероксиду водню у хлоропластах для захисту від фотогенерованого оксидативного стресу [2335]. Глутатіон-S-трансфераза (КФ 2.5.1.18) виконує функцію детоксикації гідрофобних токсичних сполук, приєднуючи їх до глутатіону. Активність цих антиоксидантних ферментів широко використовується як біомаркер оксидативного стресу, викликаного дією зовнішніх стресорів.

Реакція різних видів на виникнення окисного стресу залежить від дози та тривалості впливу бісфенолу А (табл.1.3.).

Таблиця 1.3.

Вплив бісфенолу А на ферментативну активність у різних видах  
ціанобактерій [16]

Algae	Group	Habitat	BPA conc. (mgL <sup>-1</sup> )	Exposure duration (days)	APX	SOD	POD	CAT	GST
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Green algae	Freshwater	1-50	4	—	1	—	1	—
<i>Chlorella vulgaris</i>	Green algae	Freshwater	2-50	1-10	—	2	—	2	—
<i>Cyclotella caspia</i>	Diatom	Marine	4-12	4	—	4	—	—	—
<i>Graesiella</i>	Green algae	Hot water spring	1-75	1-5	1-10	—	—	1-25	1-25*
<i>Navicula incerta</i>	Diatom	Marine	1-5	4	—	4	5*	—	4
<i>Picocystis</i>	Green algae	Saline lake	1-75	1-5	10-25	—	—	25-50	25
<i>Picocystis</i>	Green algae	Saline lake	1-75	1-5	10-25	—	—	10-25	25
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Green algae	Freshwater	1-50	4	—	25	—	10	—
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Green algae	Freshwater	1-20	4	—	1	—	2	—

Досліджування здійснювалися на багатьох видах ціанобактерій та за різних концентрацій поллютанту. Наприклад, *Chlorella pyrenoidosa* і *Scenedesmus obliquus* мали відмінну каталазну та супероксиддисмутазну активність при гострому та хронічному впливі. У *C. pyrenoidosa* ферменти активувалися вже при концентрації бісфенолу А 1 мг/л, тоді як у *S. obliquus* - при 10 мг/л – 25 мг/л [24]. Подібно до попередніх, різну динаміку ферментативної активності показали *Picocystis* та *Graesiella* – у першої глутатіон-S-трансферазна та аскорбатпероксидазна активності зростали, тоді як у іншої – знижувалася. Каталазна активність підвищувалася в обох

випадках на початкових етапах, але при високих дозах (50 мг/л-75 мг/л) стабільна активність збереглася лише в *Picocystis* [17]. Діатомова водорість *Nitzschia incerta* демонструвала специфічну реакцію на присутність полютанту, зокрема зростання супероксиддисмутази та глутатіон-S-трансферази активностей та зниження пероксидази, що може свідчити про неповне знешкодження пероксиду водню [25].

Оскільки антиоксидантна відповідь водоростей на стрес, індукований бісфенолом А, є складним, багатофакторним процесом, різниця може бути зумовлена різними факторами, наприклад: кількістю та типом активних форм кисню, специфічною чутливістю видів, особливостями їхньої структури й функціонування, а також основною мішенню дії на рівні органел. Крім того, на інтенсивність антиоксидантної відповіді впливають і зовнішні умови, такі як світловий режим, рН середовища та інші фізико-хімічні параметри.

#### **1.4. Ціанобактерії роду *Nostoc* як біологічні агенти у екобіотехнології**

Органічні забруднювачі у водному середовищі зазвичай добре засвоюються рослинами, після чого переміщуються до різних тканин і трансформуються в інші хімічні форми. Особливості самих рослин значною мірою визначають ефективність поглинання та перетворення цих сполук. Завдяки цьому зростає інтерес до використання фіторемедіації як екологічного методу очищення водних екосистем [26].

У контексті аналізу взаємодії водних рослин з токсичними сполуками та відповідних біомаркерів, розрізняють дві ключові групи рослин. До першої належать види, що природно зростають у водоймах, тоді як друга група представлена видами, які вирощують штучно в умовах гідропоніки [13]. Зважаючи на великий обсяг промислового використання бісфенолу А часто стає об'єктом дослідження щодо його поглинання, переміщення та перетворення в тканинах водних рослин.

Порядок *Nostocales* об'єднує одно- та багатоклітинні ціанобактерії, часто колоніальні, з чітко вираженим слизовим покривом. Їхні трихоми, як правило, нерозгалужені, що є характерною морфологічною ознакою представників цього порядку. *Nostocales* заселяють як прісноводні, так і морські екосистеми, а також ґрунти. Вони виконують важливу функцію – проявляють здатність до фіксації атмосферного азоту, завдяки чому є частиною глобального кругообігу азоту. Також деякі представники цього порядку можуть бути причиною «цвітіння» води, що здатне призводити до порушення рівноваги у водних біоценозах [27].

Рід *Nostoc* – один із найвідоміших представників порядку. Він включає понад 200 видів ціанобактерій, які здатні колонізувати різноманітні середовища, включаючи найекстремальніші, наприклад арктичні регіони, пустелі або високогір'я.

Його представники утворюють слизові колонії, які в окремих випадках досягають декількох сантиметрів. Трихоми в межах колоній можуть бути хаотично переплетеними або розташованими радіально, а вся колонія занурена в однорідний слиз, що виконує захисну функцію. Вегетативні клітини *Nostoc* зазвичай мають округлу або бочкоподібну форму, розміщені симетрично по довжині трихоми, не містять газових вакуолей, але мають інтеркалярні гетероцисти, які і відповідають за фіксацію азоту [28]. Завдяки утворенню захисної оболонки з полісахаридів ці організми здатні виживати в умовах посухи, високих і низьких температур, а також у середовищах з обмеженим доступом до поживних речовин.

*Nostoc commune* (Vaucher) Bornet & Flahault та *Nostoc linckia* (Roth.) Born. et Flah – два види ціанобактерій роду *Nostoc*, які мають певні спільні риси, але й істотні відмінності, що робить їх цінними моделями для порівняльних екотоксикологічних досліджень.

*Nostoc commune* широко розповсюджений у різноманітних середовищах, зокрема на ґрунтах, кам'янистих поверхнях і прісноводних водоймах. Він формує драглисті колонії, що мають здатність до десикації

(висихання) і швидкого відновлення метаболізму після повторного зволоження. Це робить надзвичайно стійким до екологічного стресу, включно з високою температурою і токсикантами. Через толерантність до стресових чинників його часто використовують як біоіндикатор і модель для дослідження впливу полютантів.

*Nostoc linckia* є більш водним видом – його найчастіше виявляють у ставках, річках і озерах із помірним або стоячим потоком. Колонії цього виду зазвичай більші та м'якіші за консистенцією та менш стійкі до абіотичного стресу, ніж *N. commune*. Через це вважається більш чутливим до забруднення середовища, що дозволяє використовувати його як модель для оцінки токсикологічного навантаження у водоймах. Його чутливість до змін у водному середовищі – включаючи рівень рН, наявність важких металів або органічних забруднювачів – робить його цінним тест-організмом.

Одночасне використання *N. commune* та *N. linckia* у дослідженні дає змогу оцінити реакції як стійкого, так і чутливого виду, проаналізувати їхні стратегії відповіді на стрес та отримати більш об'єктивну картину дії токсиканту на ціанобактерії.

Досліджуваний рід є джерелом перспективних біологічних агентів для екобіотехнології завдяки своїм здатностям до фіксації атмосферного азоту, синтезу біологічно активних сполук та толерантності до різних екологічних стресів. Вони продукують широкий спектр метаболітів, включаючи амінокислоти, пептиди, гліколіпіди та жирні кислоти. Біохімічний склад включає високий вміст білків (до 75% сухої маси), вуглеводів (до 30%) та ліпідів (до 15%). Крім того, вони містять пігменти, такі як хлорофіл а, каротиноїди та фікоціанін, які мають антиоксидантні властивості та можуть використовуватися у харчовій та фармацевтичній промисловостях [29].

Ціанобактерії роду *Nostoc* демонструють значний потенціал для біодеградації бісфенолу А у водних екосистемах. Наприклад, штам *Nostoc paludosum* показує здатність ефективно видаляти цей полютант з води,

досягаючи рівня видалення до 96% при початковій концентрації 20 мкМ. Це свідчить про активну участь *Nostoc* у процесі очищення води.

Механізми, за допомогою яких *Nostoc* здійснює біодеградацію сполуки, включають процеси, які забезпечують трансформацію бісфенолу А у менш токсичні або нетоксичні сполуки, зменшуючи його шкідливий вплив на водні організми [16].

Переваги використання *Nostoc* у біоремедіації включають його здатність до виживання в різноманітних умовах навколишнього середовища, включаючи екстремальні, а також ефективне поглинання та метаболізм органічних забруднювачів. Ці властивості роблять *Nostoc* перспективним кандидатом для застосування в системах очищення води від бісфенолу А та подібних забруднювачів.

Для подальшого впровадження *Nostoc* у практику біоремедіації необхідні додаткові дослідження, спрямовані на оптимізацію умов культивування, підвищення ефективності біодеградації та оцінку впливу на екосистеми, тому що присутня можливість «цвітіння» води та подальшого забруднення вже ціанобактеріями. Дослідження сприятимуть розробці ефективних та екологічно безпечних методів очищення водних середовищ від бісфенолу А.

## РОЗДІЛ II.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Матеріали дослідження

Матеріалом дослідження виступали альгологічно чисті культури ціанобактерій *Nostoc linckia* (Roth.) Born. et Flah та *Nostoc commune* (Vaucher) Bornet & Flahault з колекції кафедри біохімії та біотехнології Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича.

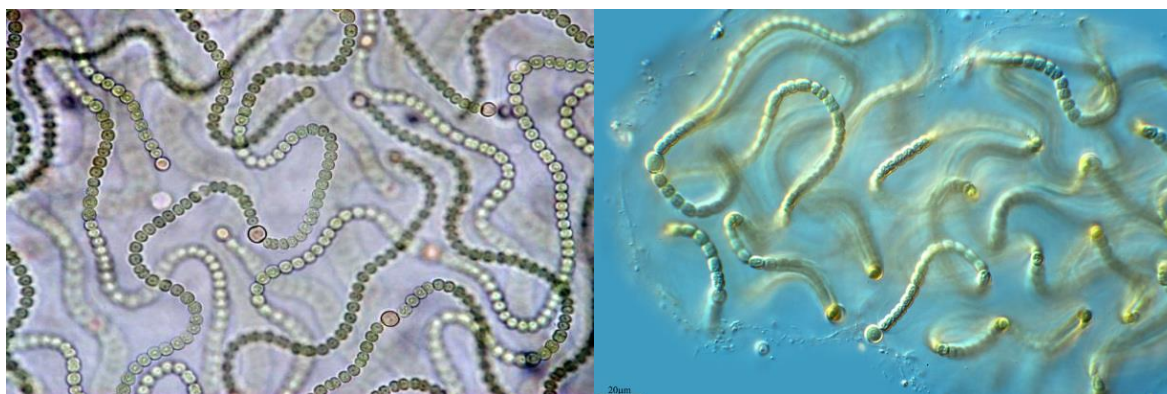


Рис. 2.1. Мікрофотографія *Nostoc commune* та *Nostoc linckia* [41, 42].

Накопичувальне культивування ціанобактерій відбувалося на середовищі Фітцджеральда [30].

Його підбір здійснювався за такими критеріями:

- доступність компонентів;
- простота приготування;
- наявність усіх необхідних поживних речовин для росту ціанобактерій;
- забезпечення оптимального рН (6.8-7.2) для проходження процесу фотосинтезу.

Для приготування середовища Фітцджеральда попередньо було заготовлено маточні розчини таких макросолей:

$\text{KNO}_3$  – 24,8 г на 100 мл води;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 1,95 г на 100 мл води;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 3,75 г на 100 мл води;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  – 1,80 г на 100 мл води;  $\text{NaHCO}_3$  – 1 г на 100 мл води;  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$  – 2,90 г на 100 мл води.

Після змішування всіх компонентів середовище розливали у стерильні колби Ерленмеєра по 250 мл. Культивування здійснювали у кліматичній шафі з наступними параметрами: температура  $22 \pm 2$  °С, вологість 85 %, 16-ти годинний фотоперіод, освітлення 2,5 тис люкс холодним білим світлом. За цих умов культури витримували 14 діб до досягнення ними експоненційної фази росту.

## 2.2. Умови дослідження

Спочатку моделювали умови забруднення бісфенолом А води. Для цього культуру ціанобактерій розливали в стерильні культуральні пробірки Фальконе по 20 мл та вносили бісфенол А у різних концентраціях: 1 мг/л, 2 мг/л, 5 мг/л, 10 мг/л, 20 мг/л, 50 мг/л та 100 мг/л.

Інкубація тривала 45 днів для моделювання довготривалого впливу бісфенолу А. Кожної 3 доби вимірювалися температура культивування середовища, рН (портативний рН-метр ADWA kft.) та щільність культури при  $\lambda=750$  нм (КФК-2УХЛ42).

Кожної 15 доби з культури ціанобактерій відбирали біомасу для вимірювання каталазної, пероксидазної та супероксиддизмутазної активності.

По закінченню терміну інкубації біомасу відділяли центрифугуванням при 4000 об/хв., 20 хвилин (центрифуга MICROmed CM-3M). В отриманій біомасі вимірювали вміст білків, ліпідів, хлорофілу а та каротиноїдів.

### 2.3. Методи дослідження

**Вимірювання пероксидазної активності.** Дослідження проводилося за стандартною методикою [381]. Цей метод базується на визначенні швидкості проходження реакції окислення бензидину під дією ферменту пероксидаза, який знаходиться в ціанобактеріях. У результаті отримуємо стабільний продукт синього кольору, інтенсивність якого прямопропорційна значенню ферментативної активності.

До відділеної біомаси додавали ацетатний буфер з рН=4,7 у співвідношенні 3:1. Біомасу обробляли ультразвуковим дезінтегратором (SE-7200A) при 60 ГЦ, 90 секунд. Далі матеріал знову центрифугували протягом 20 хвилин при 4000 об/хв. Надосадову рідину використовували для визначення пероксидазної активності.

У кварцеві кювети фотоелектроколоримера, які мають ширину 1 см, наливали компоненти, які забезпечують проходження реакції, у певній послідовності: 2 мл надосадової рідини, 2 мл 2%-ого перекису водню, 2 мл 1%-ого розчину бензидину. У контроль додають ті самі компоненти за винятком перекису водню – замість нього додають 2 мл дистильованої води. Одразу після додавання усіх компонентів потрібно увімкнути секундомір. Кювети вставляли у фотоелектроколориметр та встановлюють нульове значення за контрольним зразком. За проходження 60 секунд від старту реакції вимірюється пероксидазна активність при довжині хвилі 590 нм.

Для визначення пероксидазної активності використовують таку формулу:

$$A = \frac{E \cdot (a \cdot b)}{N \cdot c \cdot t}, \text{ де:}$$

- A* – активність форм на 1 г наважки;
- E* – екстинкція (0,125 або *Q* – 250)
- a* – об'єм витяжки 50 мл;
- b* – ступінь розведення витяжки в реакційній суміші;
- N* – наважка рослинного матеріалу (г);
- c* – товщина шару рідини в кюветі (2 см);
- t* – час (секунда).

**Вимірювання каталазної активності.** Каталаза – це фермент, що належить до класу оксидоредуктаз. Він розкладає перекис водню на воду та молекулярний кисень. Цей процес є основним механізмом забезпечення захисту клітин від впливу активних форм кисню. У цьому методі оцінка каталазної активності заснована на вимірюванні залишкової кількості перекису водню, який фермент не встиг розкласти протягом певного часу [32].

До біомаси додавали 0,1 М фосфатний буфер рН=7.4 у співвідношенні 2:1, залишали на 10 хвилин та піддавали клітини ультразвуковій дезінтеграції протягом 90 секунд. Після повторно центрифугували, визначення каталазної активності проводили у фугаті.

Для визначення активності порівнювали вміст пероксиду водню на початку реакції та після її зупинки, тому готували дві проби – нульову та дослідну. У нульову пробу додавали 1 мл екстракту з біомаси ціанобактерій, 2 мл mM перекису водню та одразу зупиняли реакцію за допомогою 0,5 мл 4%-ого розчину молібдату амонію. Це дало нам нульову точку. Для дослідної проби до 1 мл надосадової рідини так само додавали 2 мл mM  $H_2O_2$ , але, на відміну від нульової проби, реакцію інкубували протягом 1 хв за температури 25°C, і вже тоді припиняли реакцію додаванням 0,5 мл 4%-ого розчину молібдату амонію.

Молібдат амонію зупиняє дію ферменту вступаючи в реакцію з нерозкладеним пероксидом водню. Вони утворюють комплекс жовтого забарвлення, інтенсивність якого прямопропорційна кількості  $H_2O_2$  у пробі. Вимірювання здійснювали фотоелектроколориметрично за довжини хвилі 440 нм.

Для обчислення каталазної активності використовувалася така формула:

$$E = (HP0 - HP1)/(T \cdot P) \text{ , де}$$

HP0 – вміст пероксиду водню в нульовій пробі у початковий момент часу, мкмоль;  
HP1 – вміст пероксиду водню в дослідній пробі після закінчення інкубації, мкмоль;

T – тривалість інкубації, хв;  
P – вміст білка у пробі, мкг.

### **Вимірювання супероксиддисмутазної активності.**

Супероксиддисмутаза – фермент класу оксидоредуктаз, який каталізує дисмутацію супероксиду в молекулярний кисень та перекис водню. Метод базується на здатності цього ферменту пригнічувати автоокиснення адреналіну у лужному середовищі. В результаті буде утворюватися продукт жовтого забарвлення – адренохром [3337].

До зразків біомаси вливали холодний 0,1 М фосфатний буфер з рН=7,4 у співвідношенні 3:1. Суміш перемішували та після 10-хвилинної витримки проводили ультразвукову дезінтеграцію протягом 90 секунд. Отриману суспензію знову центрифугували 20 хвилин зі швидкістю 4000 об/хв. Надосадову рідину використовували як ферментний екстракт для подальшого визначення супероксиддисмутазної активності.

Для визначення ферментативної активності готували контрольну пробу – у неї додавали 2,8 мл 0,2 М карбонатного буфера (рН=10,65) та 200 мкл 0,18%-ого адреналіну. Вимірювання проводяться на спектрофотометрі (Cary-60) при довжині хвилі 347 нм: перше значення – до внесення адреналіну; друге – одразу після його додавання; наступні – кожних 30 секунд впродовж 3 хвилин. Це робиться для визначення швидкості окислення адреналіну в лужному середовищі.

Після цього вимірювали дослідні проби, які включають в себе 2,7 мл 0,2 М карбонатного буфера, 100 мкл дослідного зразка та 200 мкл 0,18%-ого адреналіну. Їх так само вимірюють на спектрофотометрі на хвилі 347 нм та за тією самою схемою, що й контрольну.

Спершу обчислюється відсоток інгібування авто окиснення, використовуючи формулу:

$$I\% = (1 - (Dk \div Dd)) \cdot 100\%, \text{ де}$$

Dk та Dd – швидкість утворення аденохрому в контролі та дослідних пробах.

Обрахунок супероксиддисмутазної активності здійснювалося за формулою:

$$A = \frac{I\%}{100\% - I\%} \cdot \frac{2}{a}, \text{ де}$$

I% - відсоток інгібування;

A – концентрація білка.

**Визначення білків.** Кількість білків вимірювалася за методом Лоурі, який ґрунтується на реакції з реактивом Фоліна [34].

Екстракцію здійснювали 0,1 М фосфатним буфером для виділення білків. Центрифугування відбувалося протягом 20 хвилин зі швидкістю 4000 об/хв. Осад та надосадова рідина розділялися в окремі пробірки для подальших досліджень.

Для дослідження у пробу додавали 0,1 мл супернатанту, 0,9 мл H<sub>2</sub>O та 5 мл реактиву С, після чого витримували протягом 10 хвилин. По закінченню визначеного часу у кожен зразок вносили по 0,5 мл реактиву Фоліна та залишали на 30 хвилин у темному місці. Після цього кількість білка вимірювали на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 780 нм.

Подальші розрахунки здійснювалися за формулою:

$$A = \frac{a * V}{C * p}, \text{ де:}$$

A – кількість білка,

a – кількість білка за калібрувальним графіком,

C – кількість екстракта взята для аналізу,

V – початкова кількість екстракта,

p – маса пробірки.

**Визначення ліпідів, хлорофілу а та каротиноїдів.** У першу чергу провели екстракцію дослідних речовин з осаду біомаси за допомогою суміші хлороформу та етанолу в співвідношенні 2:1 протягом 72 годин за відсутності впливу прямих сонячних променів. Після закінчення відведеного

часу до 0,1 мл хлороформного екстракту додавали 2 мл концентрованої сульфатної кислоти та ставили на водяну баню з температурою 100 °С на 10 хвилин. Потім пробірки охолоджували до кімнатної температури та, після додавання у кожен по 2 мл фосфованілінового реактиву, ставили їх у темне місце на 25 хвилин.

Кількість ліпідів визначали за допомогою фотоелектроколориметра при довжині хвилі 540 нм [30]. Для розрахунків використовували формулу:

$$A = \frac{C * V_1}{V_2 - m}, \text{ де:}$$

$V_1$  – загальний об'єм екстракта,

$V_2$  – об'єм екстракції взятого для аналізу,

$m$  – маса наважки,

$c$  – кількість ліпідів за калібрувальним графіком.

Хлорофіл а та каротиноїди вимірювали на спектрофотометрично (спектрофотометр Cary-60) за типових довжин хвиль [34]. Для хлорофілу а заміри здійснювали при довжині хвиль 650 нм і 665 нм. Каротиноїди вимірялися при довжині хвилі 450 нм.

Розрахунок вмісту хлорофілу а проводили за формулою:

$$A = \frac{C * V}{H} * 1000, \text{ де:}$$

$C$  – концентрація,

$V$  – об'єм,

$H$  – наважка.

Вміст загальних каротиноїдів обчислювали за формулою:

$$A = \frac{C * V * K}{H}, \text{ де:}$$

$C$  – концентрація каротиноїдів,

$V$  – об'єм екстракту,

$H$  – наважка.

## 2.4. Статистична обробка результатів

Усі дослідження проводили у 4-х кратній повторюваності ( $n=4$ ). Результати представлені як середнє значення  $M$  та відхилення від середнього значення  $m$  – ( $M \pm m$ ).

Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали згідно загальноприйнятих методів з використанням програмного забезпечення Microsoft Excel. Відмінності отриманих результатів вірогідні при рівні значимості  $p \leq 0,05$  за критерієм Ст'юдента.

## РОЗДІЛ III.

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

#### 3.1. Аналіз ростової активності та біохімічного складу ціанобактерій *N. linckia* і *N. commune* за присутності бісфенолу А

Бісфенол А – сполука, яка помітно впливає на водну екосистему, особливо живі організми, які є її важливою складовою.

Першою помітною реакцією ціанобактерій на присутність полютанту є зміни ростової активності. Вони можуть проявлятися як у вигляді стимуляції, так і пригнічення росту, що може залежати від особливостей досліджуваного виду водоростей та концентрації хімічної сполуки у середовищі.

Для якісної та регулярної оцінки росту ціанобактерій застосовувався метод фотоелектроколориметричної оцінки щільності культури. Культивування відбувалося за різних концентрацій бісфенолу А у середовищі: 1 мг/л, 2 мг/л, 5 мг/л, 10 мг/л, 20 мг/л, 50 мг/л та 100 мг/л. Метою цього дослідження було оцінити, як обрані концентрації ксенобіотика впливають на щільність біомаси ціанобактерій. Таке спостереження дало змогу виявити чутливість *N. linckia* і *N. commune* до бісфенолу А та встановити порогові значення концентрацій, за яких проявляється виражений токсичний або стимулюючий ефект.

На рисунку 3.1. зображено динаміку змін щільності культури *N. linckia* протягом 45 днів культивування. У контрольному зразку спостерігається поступове зростання біомаси протягом усього періоду дослідження. Негативний вплив бісфенолу А на нарощення культури було встановлено вже на 3 день дослідження. У першій половині інкубації (до 21 дня) різниця між контрольним значенням та дослідними незначна, що свідчить про слабе пригнічення ростової активності культури. Прослідковується логічна залежність між кількістю бісфенолу А в культуральній рідині та його

впливом: зі збільшенням концентрації поллютанту в середовищі щільність культури менша.

У другій половині визначеного періоду (після 21 дня) спостерігається більше пригнічення росту культури (особливо з 24 по 30 день експерименту). Помітно, що після 30 дня культура *N. linckia* адаптується до присутності бісфенолу А та демонструє інтенсивніше накопичення біомаси. У відрізок часу між 33 та 36 днем помітно різке збільшення біомаси в усіх зразках, особливо в пробі з найменшою кількістю ксенобіотика, де значення наблизилися до контрольного. Варто зазначити, що за концентрацій поллютанту 20 мг/л та 50 мг/л щільність культури менша, ніж за найвищої концентрації – 100 мг/л.

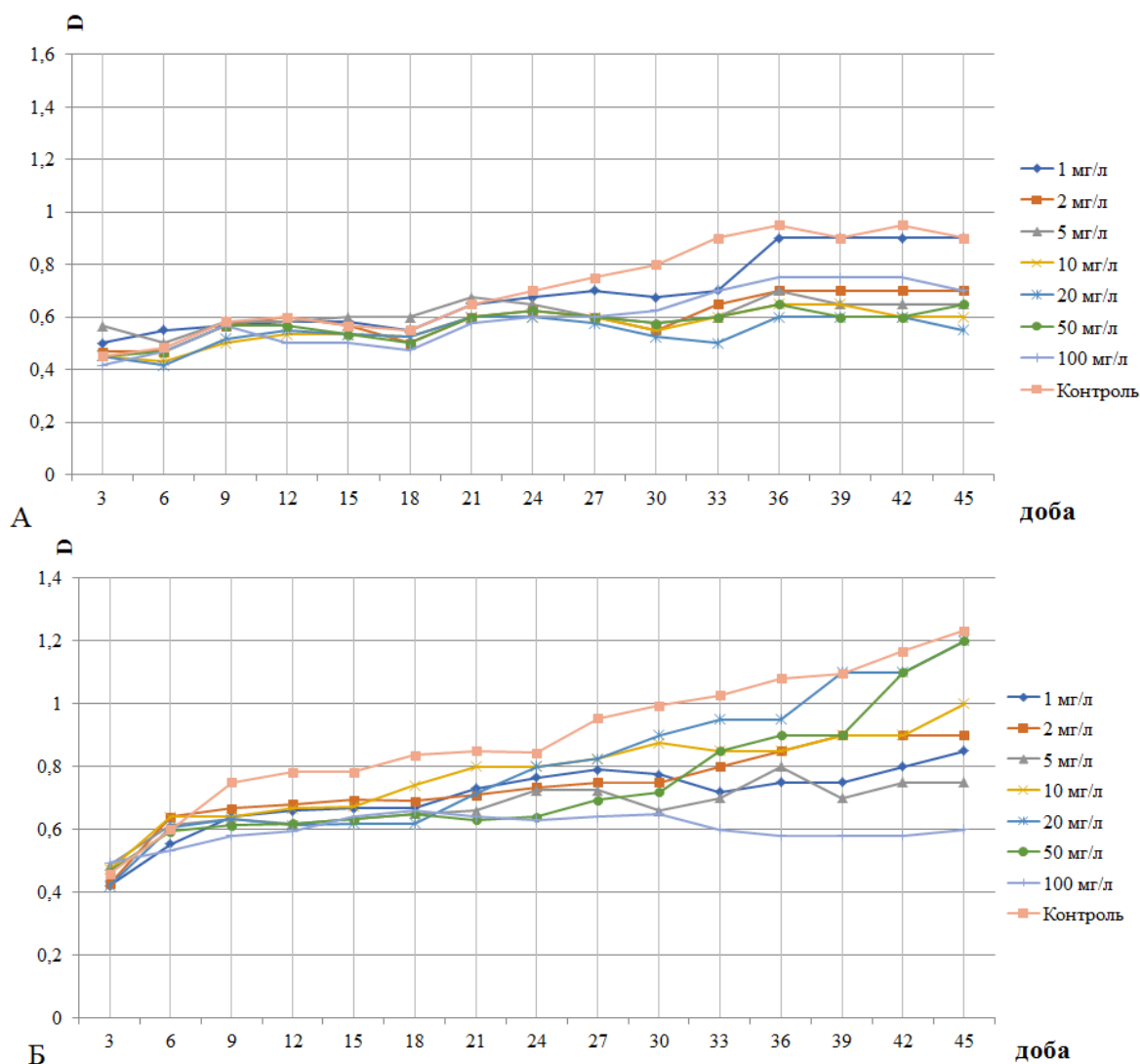
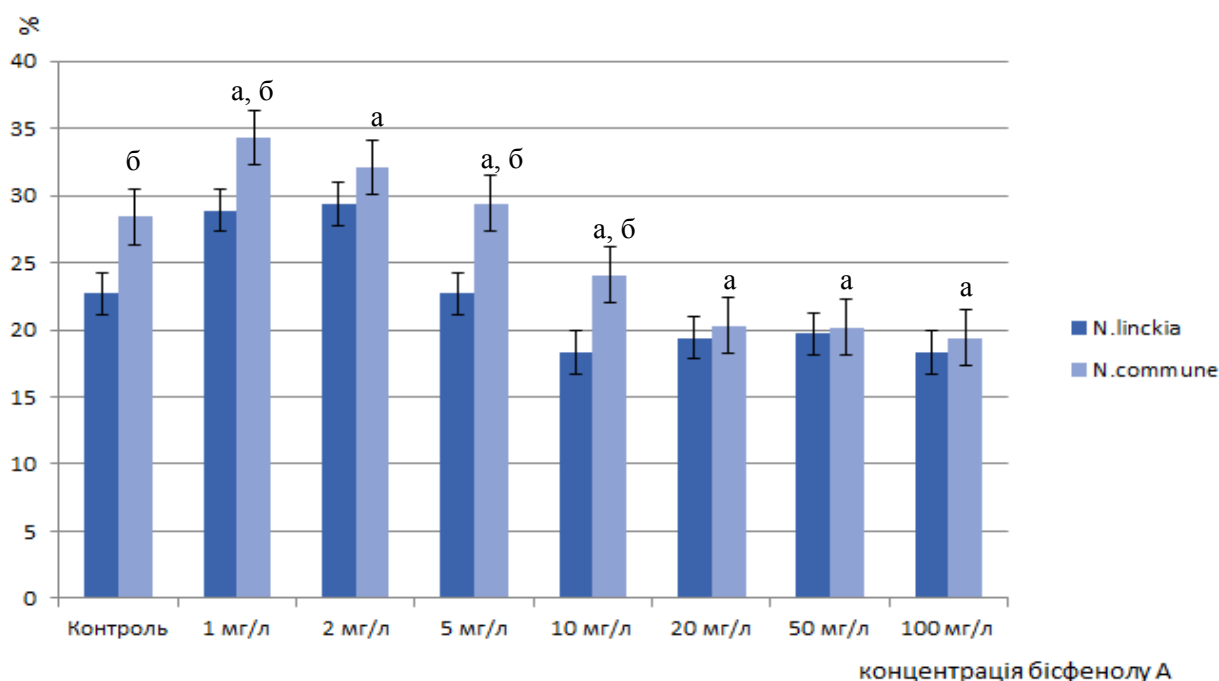


Рис. 3.1. Щільність культури *N. linckia* (А), *N. commune* (Б) за присутності бісфенолу А

Для *N. commune* спостерігалася подібна залежність. Відомо, *N. commune* це поширений вид, здатний виживати в екстремальних умовах. Щільність біомаси в зразку без бісфенолу А відбувається поступово протягом експерименту.

Спостерігаємо, що у цьому випадку полютант не здійснює вираженого негативного впливу на культуру ціанобактерій, але все одно сповільнює нарощування біомаси. Період адаптації чітко видно – з 6 по 21-24 день, після чого щільність культури збільшується. Пригнічення ростової активності найбільш виражене у пробі з концентрацією бісфенолу А 100 мг/л, особливо з 30 дня. Важливо також те, що при вимірюванні щільності у зразках з вмістом ксенобіотика 20 мг/л та 50 мг/л зафіксовані значення, найбільш наближені до контрольних.

Під час дослідження ростової активності були помітні візуальні зміни біомаси, що наштовхнуло на думку про зміну біохімічного складу біомаси ціанобактерій. У результаті спостерігаємо різницю даних вмісту білку в досліджуваних культурах *N. linckia* і *N. commune* (рис. 3.2.).



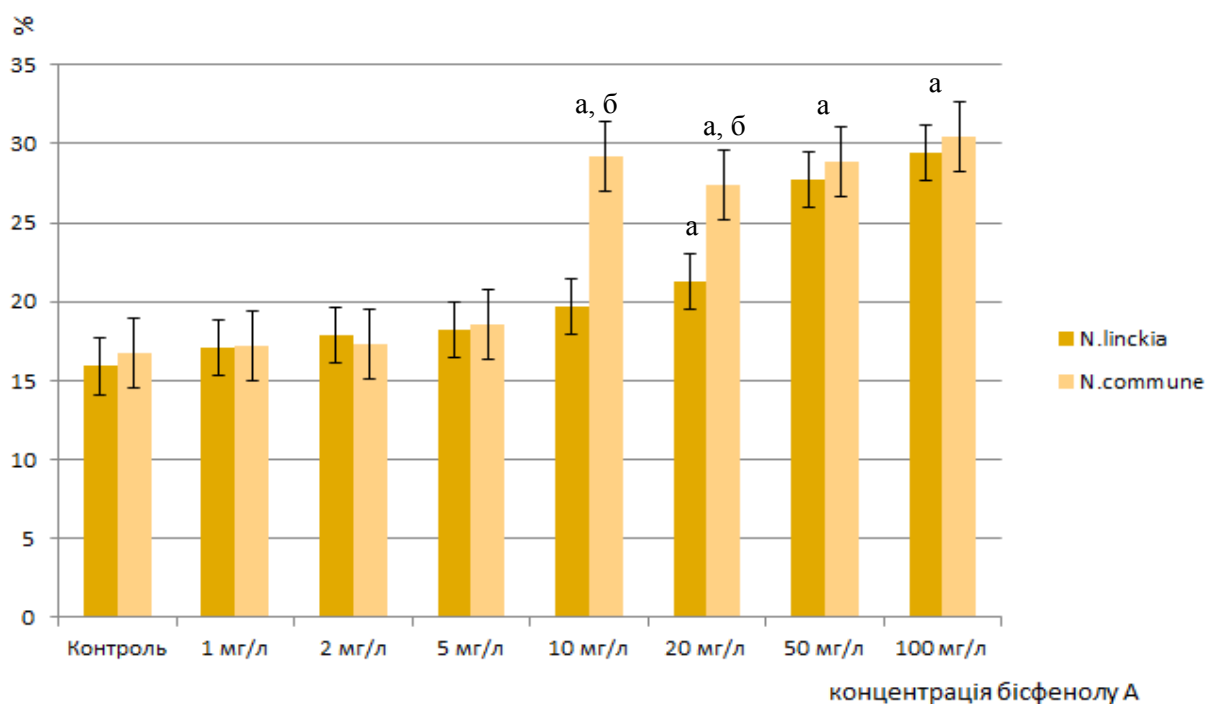
**Рис. 3.2. Вміст білку в біомасі ціанобактерій за присутності бісфенолу А**

Примітка: а – достовірна відмінність від контрольних значень, б – достовірна різниця *Nostoc commune* від *Nostoc linckia*

У контрольних зразках, які культивувалися без додавання бісфенолу А, спостерігаються такі значення: у біомасі ціанобактерій вміст білку становить 22,7%, у той час як у *N.* – 28,4%. При найменшій концентрації бісфенолу А – 1 мг/л – вміст білку збільшився у обох видів приблизно на 25%. За наступної концентрації у 2 мг/л кількість білку залишилася на схожому до попереднього рівні у обох культурах. При подальшому збільшенні концентрації полютанту до 5 мг/л бачимо такий самий рівень білку, як і в контрольному зразку. За концентрації 10 мг/л вміст білку зменшився у обох видів. При найвищих концентраціях у 20 мг/л, 50 мг/л та 100 мг/л вміст білку продовжує зменшуватися в порівнянні з попередніми концентраціями, але тримається на приблизно однаковому рівні в межах цих зразків.

Опираючись на отримані значення, можна зробити висновок, що існує виражена залежність між концентрацією бісфенолу А у середовищі та рівнем накопичення білків ціанобактеріями. Зокрема, при низьких концентраціях ксенобіотика (1-5 мг/л) спостерігалось стимулювання синтезу білків, що може свідчити про активізацію метаболічних процесів, посилене нарощування біомаси та продукування ферментів. Такий ефект, ймовірно, є проявом компенсаторної відповіді клітин на початковий стресовий чинник, що ще не досяг токсичних порогів. Проте, зі збільшенням концентрації бісфенолу А в середовищі загальний вміст білків поступово знижувався, що вказує на гальмування основних біохімічних процесів, зумовлене токсичністю сполуки, за впливу якої, можливо, пошкоджуються білкові структури.

При дослідження впливу бісфенолу А виявлено зміни вмісту ліпідів у культурах *N. linckia* і *N. commune* (рис. 3.3.).



**Рис. 3.3. Вміст ліпідів у біомасі ціанобактерій за присутності бісфенолу А**

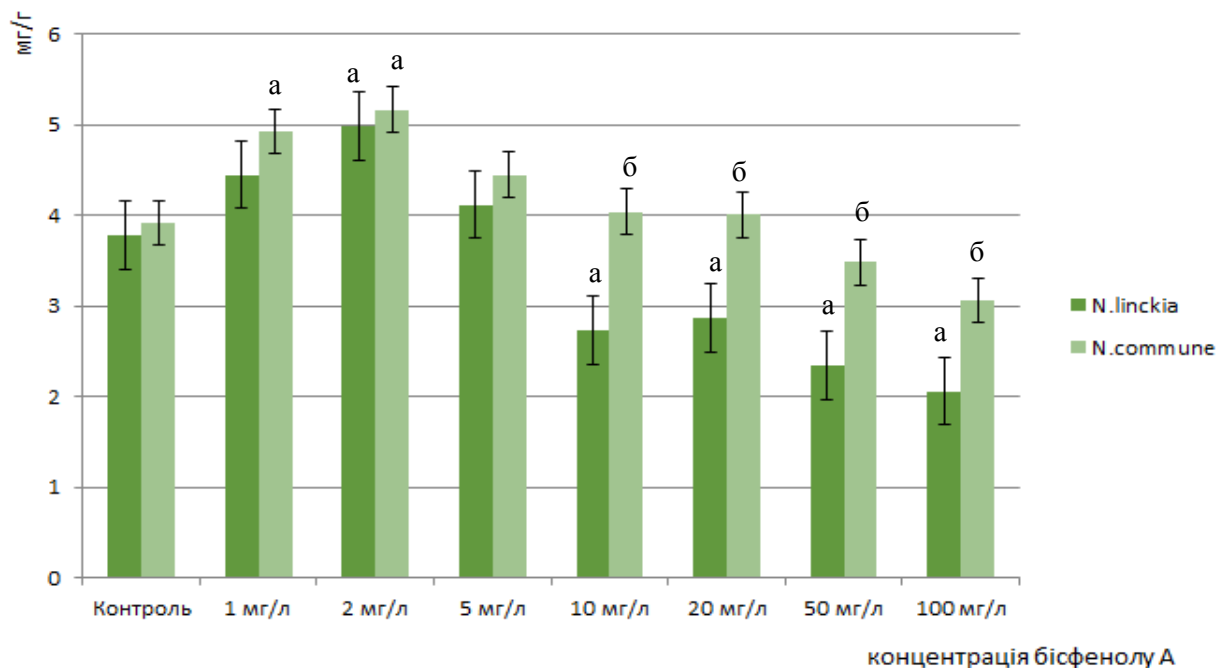
*Примітка:* а – достовірна відмінність від контрольних значень, б – достовірна різниця *Nostoc commune* від *Nostoc linckia*

У контрольних пробах культур *N. linckia* і *N. commune* вміст ліпідів становив 15,9% та 16,7% відповідно. При низьких концентраціях бісфенолу А (1-5 мг/л) спостерігається незначне збільшення кількості ліпідів порівняно з контролем у обох досліджуваних культурах. У пробі з вмістом полютанту 10 мг/л фіксується помірне підвищення рівня ліпідів у біомасі ціанобактерій *N. linckia*, тоді як у *N. commune* підвищення різке. За впливу найвищих концентрацій (20-100 мг/л) бісфенолу А у культурі *N. linckia* спостерігається досить стрімке зростання вмісту ліпідів. У той же час у біомасі ціанобактерій *N. commune* за тієї ж концентрації полютанту вміст ліпідів дещо знижується, після чого знову зростає.

Згідно з отриманими даними, можна зробити такий висновок: зі зростанням концентрації бісфенолу А у середовищі кількість ліпідів у клітинах ціанобактерій зростає. Така відповідь, ймовірно, є частиною адаптивного механізму, спрямованого на стабілізацію клітинних мембран в умовах токсичного навантаження. Ліпіди, зокрема поліненасичені жирні

кислоти, можуть відігравати роль у формуванні бар'єрної функції мембран і захисті від ушкодження активними формами кисню, які продукуються внаслідок оксидативного стресу, індукованого впливом бісфенолу А.

У результаті дослідження впливу бісфенолу А спостерігається зміна вмісту хлорофілу а у культурах *N. linckia* і *N. commune* (рис. 3.4.).



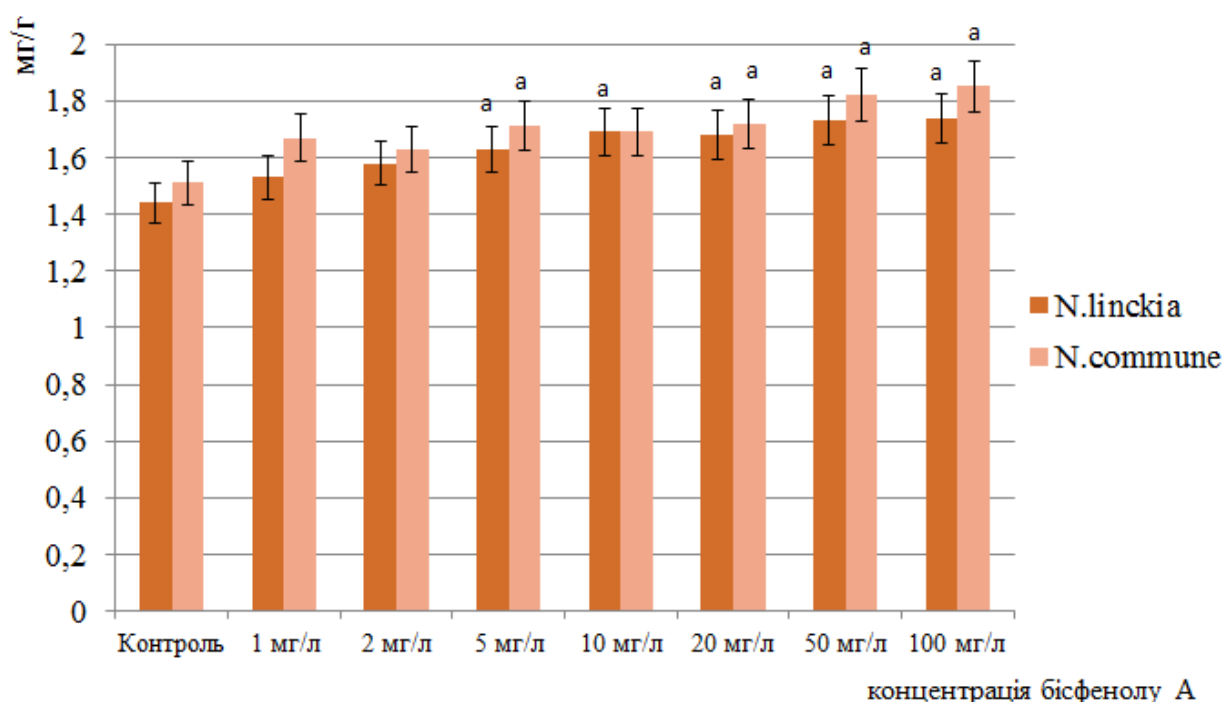
**Рис. 3.4. Вміст хлорофілу а в біомасі ціанобактерій за присутності бісфенолу А**

*Примітка:* а – достовірна відмінність від контрольних значень, б – достовірна різниця *Nostoc commune* від *Nostoc linckia*

У контрольних умовах вміст хлорофілу а складав 3,78 мг/г у культурі *N. linckia* та 3,92 мг/г у біомасі ціанобактерій *N. commune*. При низьких дозах бісфенолу А (1-2 мг/л) рівень хлорофілу а в обох культурах підвищився приблизно на 30%. За концентрації поллютанту 5 мг/л спостерігається зниження кількості пігменту в обох видах, але все ще є вищим, ніж контрольні значення. При наступних концентраціях (10-100 мг/л) у культурі *N. linckia* фіксується різке зниження кількості хлорофілу а у біомасі аж до 2,06 мг/г. У *N. commune* зниження вмісту досліджуваного пігменту відбувається поступово. Навіть при найвищій концентрації ксенобіотика у 100 мг/л кількість хлорофілу а становить 3,06 мг/г.

Щодо впливу бісфенолу А на хлорофіл а спостерігалася така концентраційна залежність: при низьких дозах полютанту рівень хлорофілу а підвищувався, що може бути свідченням активації фотосинтетичного апарату на ранніх етапах впливу стресового чинника. Це, можливо, пов'язано зі спробою клітин компенсувати пошкодження шляхом інтенсифікації фотосинтезу. Тоді як при високих концентраціях бісфенолу А відзначалося різке зниження вмісту хлорофілу а, що може вказувати на деструкцію пігментних комплексів, порушення функціонування фотосистем і загальне пригнічення фотосинтетичної активності.

Під час дослідження культивування ціанобактерій *N. linckia* і *N. commune* за присутності бісфенолу А спостерігалася зміна вмісту каротиноїдів у біомасі (рис. 3.5.).



**Рис. 3.5. Вміст каротиноїдів у біомасі ціанобактерій за присутності бісфенолу А**

*Примітка:* а – достовірна відмінність від контрольних значень, б – достовірна різниця *Nostoc commune* від *Nostoc linckia*

У контрольних пробах вміст каротиноїдів у біомасі *N. linckia* складає 1,44 мг/г, у ціанобактерій *N. commune* – 1,51 мг/г сухої сировини. При додаванні бісфенолу А у найменшій концентрації 1 мг/л кількість пігменту в

обох видах підвищується. При подальших підвищеннях концентрації полютанту в середовищі зберігається та сама тенденція до незначного збільшення вмісту каротиноїдів. Найвищі значення вмісту каротиноїдів зафіксовані за найбільшої концентрації ксенобіотику (100 мг/л).

За такими результатами можна зробити висновок, що кількість каротиноїдів зростала майже лінійно зі збільшенням концентрації бісфенолу А. Незначне, але стабільне підвищення вмісту цих пігментів, які виконують переважно антиоксидантну функцію, свідчить про активацію захисних механізмів клітин у відповідь на оксидативний стрес, спричинений присутністю полютанту. Каротиноїди можуть знешкоджувати вільні радикали та запобігати фотодеструкції хлорофілу, що особливо важливо в умовах дії токсичного забруднювача.

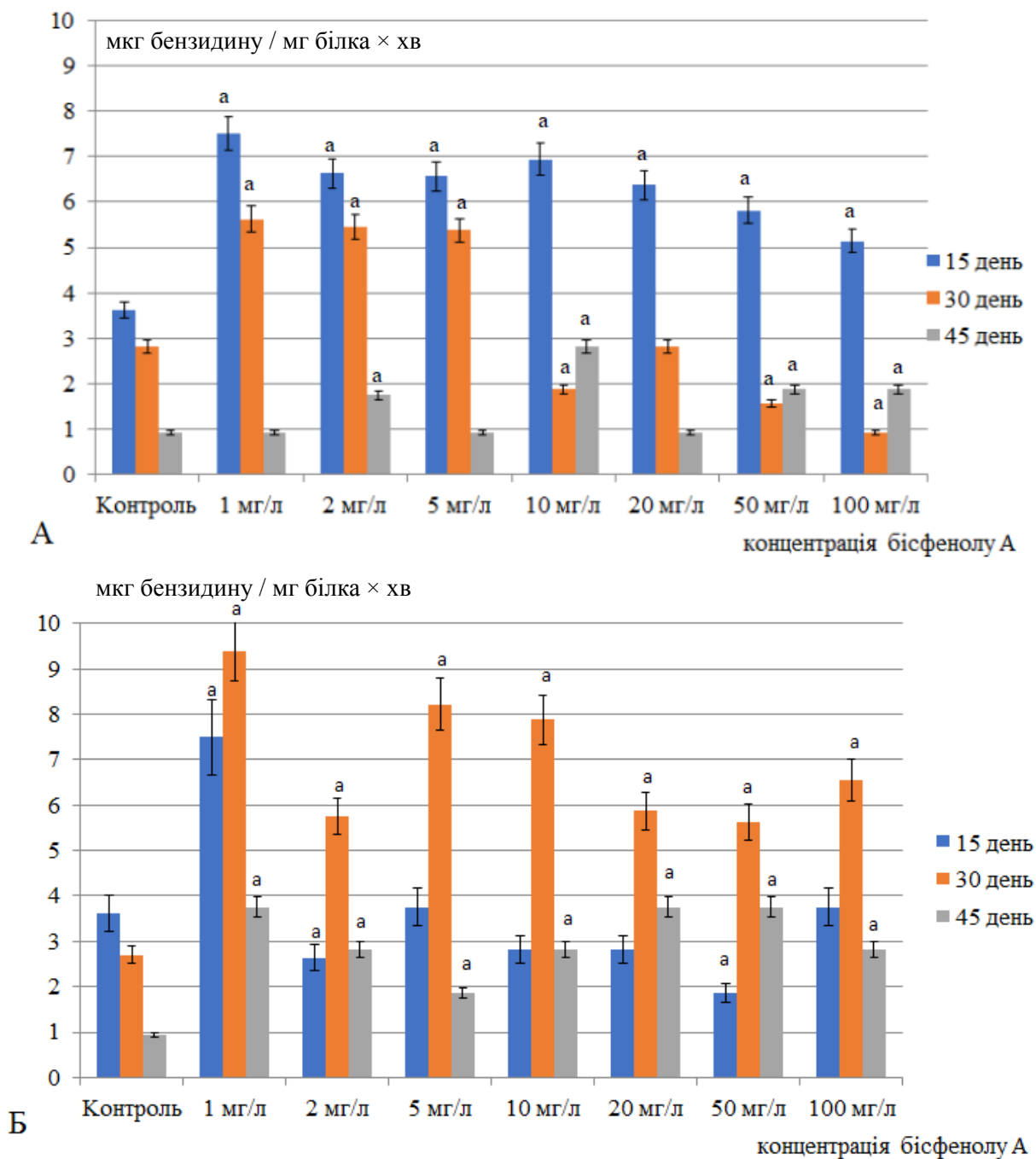
### **3.2. Визначення активності ферментів антиоксидантного захисту**

Під дією бісфенолу А у клітин ціанобактерій може виникати стан окисного стресу, що супроводжується накопиченням активних форм кисню (АФК), які здатні завдавати шкоди білковим молекулам, ліпідам та ДНК. До таких АФК належать супероксид-аніони, гідроксильні радикали й перекис водню — високореактивні сполуки, які за відсутності ефективного захисту можуть спричинити серйозні ушкодження клітинних структур. З метою протидії цим процесам у ціанобактерій сформувалася антиоксидантна система, що включає ферментативні (зокрема супероксиддисмутазу, каталазу, пероксидазу) та неферментативні (наприклад, аскорбат) компоненти [4].

Пероксидаза – фермент, який відіграє важливу роль у нейтралізації перекису водню й органічних гідропероксидів, перетворюючи їх на менш токсичні сполуки за участі донорів електронів. У фотосинтезуючих організмів активність цього ферменту також може змінюватися залежно від інтенсивності освітлення, фотодихальних процесів і загального

фізіологічного стану клітин. Вимірювання пероксидазної активності дозволяє нам оцінити ступінь окисного стресу та ферментативний захист ціанобактерій у відповідь на дію бісфенолу А.

На рисунку 3.6 відображено зміну пероксидазної активності у культурах *N. linckia* та *N. commune* на 15, 30 та 45 дні культивування за умов дії різних концентрацій бісфенолу А.



**Рис. 3.6. Пероксидазна активність клітин *N. linckia* (А) та *N. commune* (Б) за присутності бісфенолу А**

Примітка: а – достовірна відмінність від контрольних значень

На 15 день експерименту пероксидазна активність різко зростала в усіх зразках з бісфенолом А, найбільше – при концентраціях 1 мг/л і 10 мг/л. Надалі активність знижувалася: у варіантах з 1–5 мг/л – на 20%, в інших – на 60–80%. На 45 день значення переважно наближені до контрольного рівня.

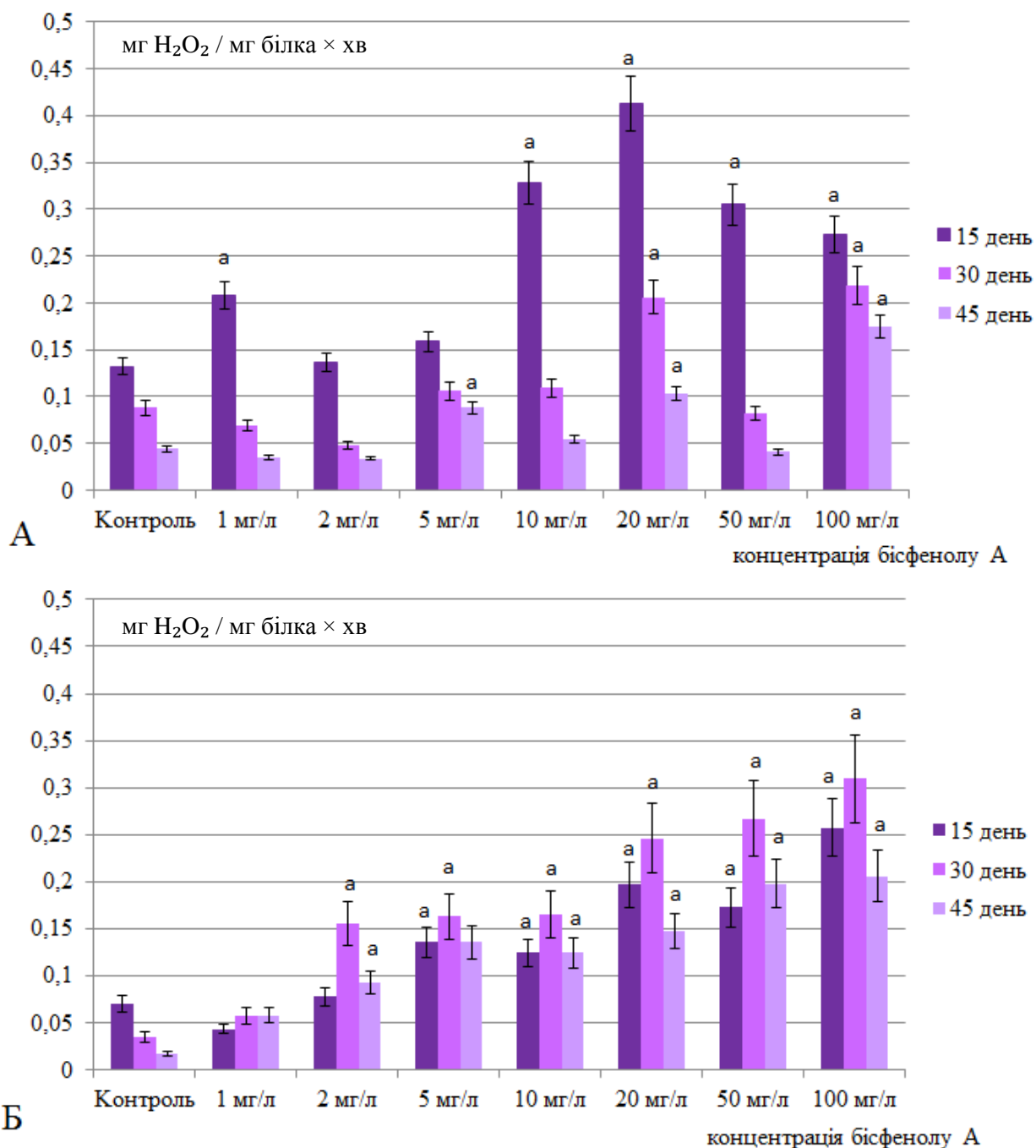
Зазначимо, що отримані дані по *N. commune* дещо відрізняються від *N. linckia*. У контрольному значенні ми спостерігаємо ту саму тенденцію – на 15 день культивування пероксидазна активність найвища. Але в дослідних зразках дані першого вимірювання незначно підвищені, або ж взагалі нижчі від контрольного. В усіх дослідних пробах підвищення активності відбувається на 30 день. На 45 день значення знижуються і приближені до даних за 15 день, але залишаються вищими у порівнянні з контролем.

Отже, найвищою пероксидазна активність у ціанобактерій *N. linckia* була на 15 день. Можливо, такий результат пов'язаний з активацією антиоксидантної системи, спрямованої на захист клітини від впливу бісфенолу А. Подальше зниження значень може бути спровоковане адаптацією клітин до наявності поллютанту, або ж виснаженням антиоксидантного захисту.

У *N. commune* найвищі значення зафіксовані на 30 день досліду, що може бути підтвердженням здатності виду адаптуватися до екстремальних умов навколишнього середовища.

Каталаза – фермент, який теж потрібен для повноцінної оцінки антиоксидантного захисту клітини. Він здатен розкласти перекис водню на воду та молекулярний кисень без участі додаткових донорів електронів, таким чином запобігаючи накопиченню  $H_2O_2$  у великій кількості.

Зміну каталазної активності у культурі *N. linckia* та *N. commune* на 15, 30 та 45 дні культивування за умов дії різних концентрацій бісфенолу А відображено на рисунку 3.7.



**Рис. 3.7. Каталазна активність клітин *N. linckia* (А) та *N. commune* (Б) за присутності бісфенолу А**

*Примітка:* а – достовірна відмінність від контрольних значень

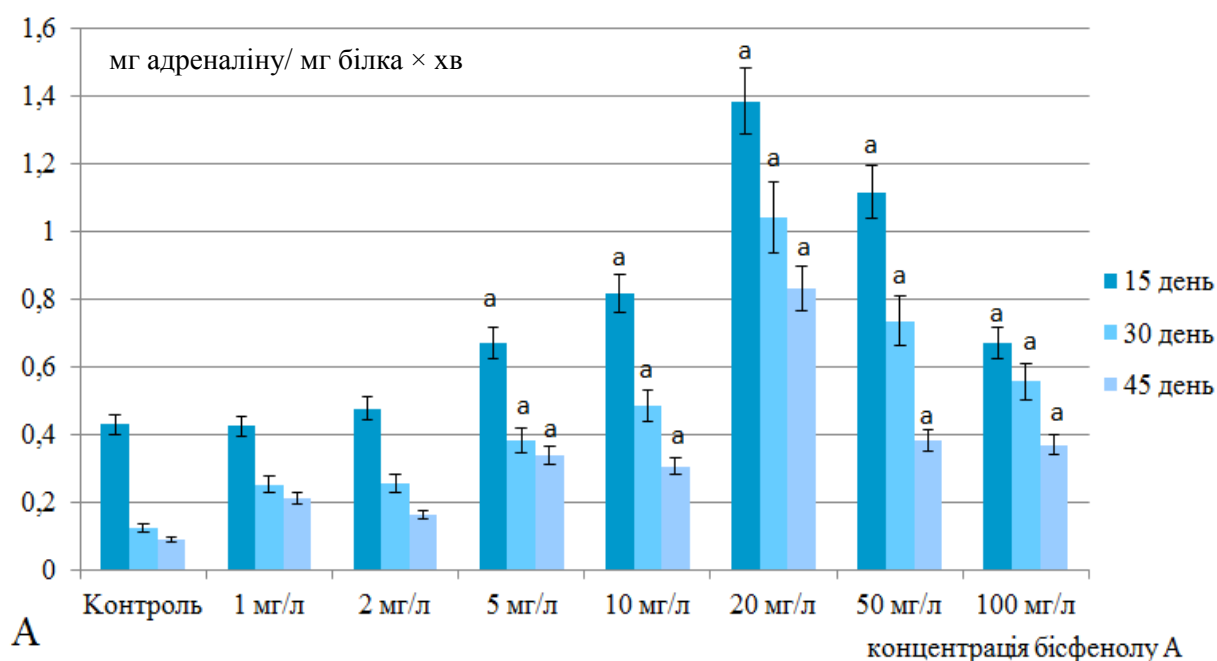
На 15 день каталазна активність зросла в усіх зразках, крім варіантів з 2 мг/л і 5 мг/л бісфенолу А, де вона була на рівні контролю. Найвища активність зафіксована у пробі з вмістом полютанту 20 мг/л. При подальшому спостереженні відмічено різке падіння каталазної активності на 30 день, після чого спад не зупиняється та на 45 день встановлені ще нижчі значення у порівнянні з попереднім вимірюванням.

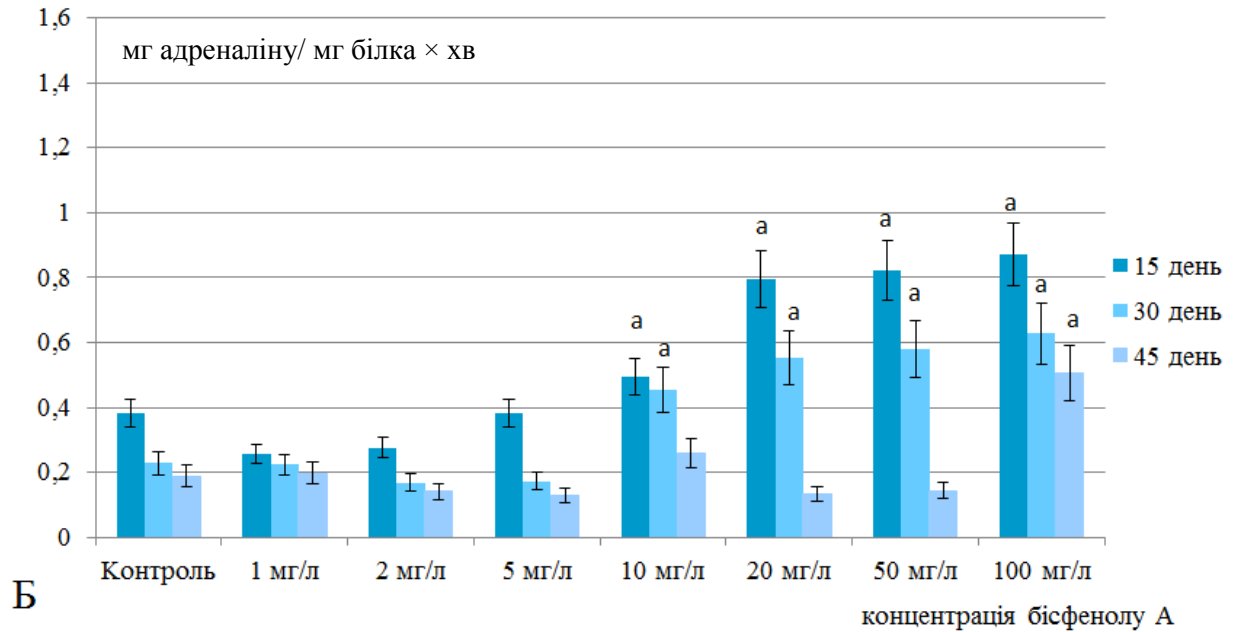
У культурі ціанобактерій *N. commune* спостерігаємо дещо іншу тенденцію. При першому вимірюванні каталазна активність у пробах з найнижчими концентраціями бісфенолу А у середовищі (1мг/л та 2 мг/л) фіксується на рівні контрольного значення, тоді як за більшого вмісту поліутанту ця активність підвищується. Нашу увагу привернув факт, що на 30 день інкубації ферментативна активність досягла найвищого рівня, а на 45 день знизилася до значень 15 дня.

Порівнюючи дані з обох експериментів можемо стверджувати, що каталазна активність у *N. linckia* підвищена на 15 день. Ймовірно, це пов'язано з мобілізацією антиоксидантної системи, яка активується для нейтралізації шкідливої дії бісфенолу А. У *N. commune* на 30 день. Також помітно, що значення активності у *N. linckia* в цілому вище, ніж у *N. commune*, що може бути пов'язано з більшою стійкістю останнього виду до стресових умов.

Супероксиддисмутаза – ключовий фермент, який працює у комплексі з пероксидазою та каталазою, каталізуючи перетворення супероксид-аніону у перекис водню та кисень. Це перша відповідь проти окислювального стресу.

На рисунку 3.8. відображено зміну супероксиддисмутазної активності у культурі *N. linckia* на 15, 30 та 45 дні культивування за умов дії різних концентрацій бісфенолу А.





**Рис. 3.8. Супероксиддисмутазна активність клітин *N. linckia* (А) та *N. commune* (Б) за присутності бісфенолу А**

*Примітка:* а – достовірна відмінність від контрольних значень

Найвищі значення супероксиддисмутазної активності було зафіксовано в усіх пробах на 15 день культивування. У зразках з найнижчими концентраціями бісфенолу А (1 мг/л та 2 мг/л) активність залишалася на рівні контролю, тоді як у всіх інших підвищувалася. Найвищу активність виявлено в зразку з концентрацією полютанту 20 мг/л. Проте вже на 30 день відзначається різке зниження каталазної активності, яке продовжується і до 45 дня, коли значення стають ще нижчими, ніж на попередньому етапі.

У ціанобактерій *N. commune* тенденція змін супероксиддисмутазної активності схожа на *N. linckia*. Тобто, на 15 день експерименту спостерігаємо найвищі значення активності. Різниця полягає в тому, що, на відміну від попереднього виду, у цього найвища активність фіксується за концентрації бісфенолу А 100 мг/л. При наступних вимірюваннях відмічаємо зниження показника.

На основі отриманих результатів можна зробити висновок, що супероксиддисмутазна активність у обох досліджуваних видів ціанобактерій досягає максимуму на 15 день експерименту. Це свідчить про запуск

антиоксидантної відповіді клітин на стрес, викликаний присутністю поллютанту. Найвищі значення ферментативної активності фіксуються за високих концентрацій бісфенолу А, що вказує на залежність захисної реакції від рівня токсичного навантаження. Подальше зниження активності може бути пов'язане з виснаженням ферментативної системи або адаптацією клітин до стресових умов.

За змінами ростової активності, біохімічного складу біомаси та активності ферментативної ланки антиоксидантного захисту в процесі тривалої інкубації встановлена здатність представників роду *Nostoc* адаптуватися до присутності бісфенолу А у водних екосистемах. Отримані результати дозволяють припустити, що виявлене явище може сприяти активізації процесів «цвітіння» води, виступаючи одним із додаткових чинників, що провокує небажані екологічні зміни у водному середовищі.

## ВИСНОВКИ

1. Присутність бісфенолу А у середовищі здійснює негативний вплив на ростову активність ціанобактерій роду *Nostoc* на перших етапах культивування (до 21 доби). Надалі спостерігається поступове збільшення ростової активності залежно від концентрації бісфенолу А.

2. Зареєстровані зміни показників біохімічного профілю ціанобактерій роду *Nostoc* за присутності бісфенолу А. У обох досліджуваних видів вміст загальних білків підвищується за концентрації полютанту 1 – 5 мг/л, зі збільшенням концентрації кількість білка зменшується до рівня контрольних значень. Кількість загальних ліпідів у біомасі представників *Nostoc* збільшується з підвищенням вмісту бісфенолу А в середовищі і сягають 30 % біомаси за дії 100 мг/л полютанту.

3. Присутність бісфенолу А в середовищі також впливає на фотосинтетичний апарат ціанобактерій. Зафіксовано підвищення кількості хлорофілу А за дії низьких концентрацій полютанту (1 – 5 мг/л) в обох видах роду *Nostoc*. За високих концентрацій відповідь на стресовий чинник дещо відрізняється у досліджуваних видів: у *N. linckia* за високого вмісту бісфенолу А відмічено різке зниження кількості хлорофілу а, тоді як у *N. commune* показники не відрізняються від контрольних значень. Зі збільшенням концентрації бісфенолу А зафіксоване збільшення кількості каротиноїдів у обох видів.

4. Відмічено збільшення активності ферментативної ланки антиоксидантної системи ціанобактерій на присутність бісфенолу А. У клітинах *N. linckia* зафіксовано найвищу пероксидазну, каталазну та супероксиддисмутазну активність на 15 день інкубації, тоді як у клітинах *N. commune* пероксидазна та каталазна активність підвищується на 30 день, а супероксиддисмутазна на 15 день. Зафіксовано зниження ферментативної активності у клітинах представників роду *Nostoc* за тривалої інкубації (45 діб) з бісфенолом А.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Сохацька Х.Ю., Чебан Б.А., Худа Л.В., Чебан Л.М. Потенціал ціанобактерій роду *Nostoc* у біодеградації забруднень води бісфенолом А. X Міжнародний молодіжний конгрес «Сталий розвиток: захист навколишнього середовища. Енергоощадність. Збалансоване природокористування». Львів. 27-28 березня 2025. С.102.
2. Flint, S., Markle, T., Thompson, S., & Wallace, E. (2012). Bisphenol A exposure, effects, and policy: A wildlife perspective. *Journal of Environmental Management*, 104, 19–34. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.03.021>
3. Sendra, M., Moreno-Garrido, I., & Blasco, J. (2023). Single and multispecies microalgae toxicological tests assessing the impact of several BPA analogues used by industry. *Environmental Pollution*, 122073. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122073>
4. Сохацька Х.Ю., Чебан Л.М. Пероксидазна активність як маркер активації антиоксидантної системи у ціанобактерій за впливу бісфенолу А. Міжнародна наукова конференція «Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування». Харків, 14-15 травня 2025.
5. Besaratinia, A. (2023). The State of Research and Weight of Evidence on the Epigenetic Effects of Bisphenol A. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(9), 7951. <https://doi.org/10.3390/ijms24097951>
6. Zavala, C., Vest, N. A., Baca, J., Zhang, D., McClain, K. R., & Harvey, B. G. (2023). Highly Efficient Synthesis of Sustainable Bisphenols from Hydroxycinnamic Acids. *RSC Sustainability*. <https://doi.org/10.1039/d3su00175j>
7. Corrales, J., Kristofco, L. A., Steele, W. B., Yates, B. S., Breed, C. S., Williams, E. S., & Brooks, B. W. (2015). Global Assessment of Bisphenol A in the Environment. *Dose-Response*, 13(3), 155932581559830. <https://doi.org/10.1177/1559325815598308>
8. Tarafdar, A., Sirohi, R., Balakumaran, P. A., Reshmy, R., Madhavan, A., Sindhu, R., Binod, P., Kumar, Y., Kumar, D., & Sim, S. J. (2022).

The hazardous threat of Bisphenol A: Toxicity, detection and remediation. *Journal of Hazardous Materials*, 423, 127097. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127097>.

9. Maćczak, A., Duchnowicz, P., Sicińska, P., Koter-Michalak, M., Bukowska, B., & Michałowicz, J. (2017). The in vitro comparative study of the effect of BPA, BPS, BPF and BPAF on human erythrocyte membrane; perturbations in membrane fluidity, alterations in conformational state and damage to proteins, changes in ATP level and Na<sup>+</sup> /K<sup>+</sup> ATPase and AChE activities. *Food and Chemical Toxicology*, 110, 351–359. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.10.028>.

10. Kurian, J. R., Keen, K. L., Kenealy, B. P., Garcia, J. P., Hedman, C. J., & Terasawa, E. (2015). Acute Influences of Bisphenol A Exposure on Hypothalamic Release of Gonadotropin-Releasing Hormone and Kisspeptin in Female Rhesus Monkeys. *Endocrinology*, 156(7), 2563–2570. <https://doi.org/10.1210/en.2014-1634>.

11. Valentino, R., D'Esposito, V., Ariemma, F., Cimmino, I., Beguinot, F., & Formisano, P. (2015). Bisphenol A environmental exposure and the detrimental effects on human metabolic health: is it necessary to revise the risk assessment in vulnerable population? *Journal of Endocrinological Investigation*, 39(3), 259–263. <https://doi.org/10.1007/s40618-015-0336-1>.

12. Mishra, A., Goel, D., & Shankar, S. (2023). Bisphenol A contamination in aquatic environments: a review of sources, environmental concerns, and microbial remediation. *Environmental Monitoring and Assessment*, 195(11). <https://doi.org/10.1007/s10661-023-11977-1>

13. Liang, J., Li, C., Dang, Y., Feng, X., Ji, X., Liu, X., Zhao, X., Zhang, Q., Ren, Z., Wang, Y., Li, Y., Qu, G., & Liu, R. (2024). Occurrence of bisphenol A analogues in the aquatic environment and their behaviors and toxicity effects in plants. *Environment International*, 193, 109105. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.109105>

14. Li, J., Wang, Y., Li, N., He, Y., Xiao, H., Fang, D., & Chen, C. (2022). Toxic Effects of Bisphenol A and Bisphenol S on *Chlorella Pyrenoidosa* under Single and Combined Action. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(7), 4245. <https://doi.org/10.3390/ijerph19074245>
15. Xiang, R., Shi, J., Yu, Y., Zhang, H., Dong, C., Yang, Y., & Wu, Z. (2017). The Effect of Bisphenol A on Growth, Morphology, Lipid Peroxidation, Antioxidant Enzyme Activity, and PS II in *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Scenedesmus quadricauda*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 74(4), 515–526. <https://doi.org/10.1007/s00244-017-0454-1>
16. Azizullah, A., Khan, S., Gao, G., & Gao, K. (2022). The interplay between bisphenol A and algae – a review. *Journal of King Saud University - Science*, 102050. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102050>
17. Ben Ouada, S., Ben Ali, R., Leboulanger, C., Zaghdien, H., Choura, S., Ben Ouada, H., & Sayadi, S. (2018). Effect and removal of bisphenol A by two extremophilic microalgal strains (Chlorophyta). *Journal of Applied Phycology*, 30(3), 1765–1776. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1386-x>
18. Yang, M., & Wang, X. (2019). Interactions between *Microcystis aeruginosa* and coexisting bisphenol A at different phosphorus levels. *Science of The Total Environment*, 658, 439–448. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.089>
19. Li, R., Liu, Y., Chen, G., Tam, N. F. Y., Shin, P. K. S., Cheung, S. G., & Luan, T. (2008). Physiological responses of the alga *Cyclotella caspia* to bisphenol A exposure. *Botanica Marina*, 51(5). <https://doi.org/10.1515/bot.2008.050>
20. Ray, P. D., Huang, B.-W., & Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular Signalling*, 24(5), 981–990. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2012.01.008>
21. Shakir, S. K., Irfan, S., Akhtar, B., Rehman, S. u., Daud, M. K., Taimur, N., & Azizullah, A. (2018). Pesticide-induced oxidative stress and antioxidant responses in tomato (*Solanum lycopersicum*)

seedlings. *Ecotoxicology*, 27(7), 919–935. <https://doi.org/10.1007/s10646-018-1916-6>

22. Morelli, E. (2004). Copper-induced changes of non-protein thiols and antioxidant enzymes in the marine microalga *Phaeodactylum tricoratum*. *Plant Science*. [https://doi.org/10.1016/s0168-9452\(04\)00150-5](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(04)00150-5)

23. Kuo, E. Y., Cai, M.-S., & Lee, T.-M. (2020). Ascorbate peroxidase 4 plays a role in the tolerance of *Chlamydomonas reinhardtii* to photo-oxidative stress. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70247-z>

24. Zhang, W., Sun, W., An, S., Xiong, B., Lin, K., Cui, X., & Guo, M. (2013). Acute and Chronic Toxic Effects of Chloramphenicol on *Scenedesmus Obliquus* and *Chlorella Pyrenoidosa*. *Water Environment Research*, 85(8), 725–732. <https://doi.org/10.2175/106143013x13596524515780>

25. Liu, Y., Guan, Y., Gao, Q., Tam, N. F. Y., & Zhu, W. (2010). Cellular responses, biodegradation and bioaccumulation of endocrine disrupting chemicals in marine diatom *Navicula incerta*. *Chemosphere*, 80(5), 592–599. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.03.042>

26. Gattullo, C. E., Bährs, H., Steinberg, C. E. W., & Loffredo, E. (2012). Removal of bisphenol A by the freshwater green alga *Monoraphidium braunii* and the role of natural organic matter. *Science of The Total Environment*, 416, 501–506. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.11.033>

27. Костіков І.Ю., Царенко П.М. (2013). Альгологія. Київ

28. Якубенко Б.Є., Царенко П.М., Алейніков І.М., Шабарова С.І., Машковська С.П., Дядюша Л.М., Тертишний А.П. Ботаніка з основами гідроботаніки (водні рослини України). Підручник для студентів класичних та аграрних університетів. – К.: Фітосоціоцентр, 2011. – 535 с.

29. Macário, I. P. E., Veloso, T., Romão, J., Gonçalves, F. J. M., Pereira, J. L., Duarte, I. F., & Ventura, S. P. M. (2022). Metabolic composition of the cyanobacterium *Nostoc muscorum* as a function of culture time: A <sup>1</sup>H NMR metabolomics study. *Algal Research*, 66, 102792. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102792>

30. Золотарьова, О. К., Шнюкова, Є. І., Сиваш, О. О., & Михайленко, Н. Ф. (2008). Перспективи використання мікрроводоростей у біотехнології. Київ: Альтерпрес
31. Flors, V., Miralles, M. C., González-Bosch, C., Carda, M., & García-Agustín, P. (2003). Induction of protection against the necrotrophic pathogens *Phytophthora citrophthora* and *Alternaria solani* in *Lycopersicon esculentum* Mill. by a novel synthetic glycoside combined with amines. *Planta*, 216(6), 929–938. <http://www.jstor.org/stable/23387699>
32. Hadwan, M. H., & Abed, H. N. (2016). Data supporting the spectrophotometric method for the estimation of catalase activity. *Data in Brief*, 6, 194–199. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2015.12.012>
33. Ketsa, O., Shvets, A., & Marchenko, M. (2024). Enzymatic and non-enzymatic link components of antioxidant defence in subcellular fractions of rat liver under the influence of diethyl phthalate. *Studia Biologica*, 18(1), 57–68. <https://doi.org/10.30970/sbi.1801.761>
34. Мусієнко М.М., Паршикова Т.В., Славний П.С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. – К.: Фітосоціоцентр, 2001.- 200 с.
35. M'Rabet, C., Kéfi–Daly Yahia, O., Chomérat, N., Zentz, F., Bilien, G., & Pringault, O. (2021). Transient effect of bisphenol A (BPA) and di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on the cosmopolitan marine diatom *Chaetoceros decipiens-lorenzianus*. *Environmental Pollution*, 285, 117362. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117362>
36. Huang, Q., & Weber, W. J. (2005). Transformation and Removal of Bisphenol A from Aqueous Phase via Peroxidase-Mediated Oxidative Coupling Reactions: Efficacy, Products, and Pathways. *Environmental Science & Technology*, 39(16), 6029–6036. <https://doi.org/10.1021/es050036x>
37. Czarny-Krzywińska, K., Krawczyk, B., & Szczukocki, D. (2022). Toxicity of bisphenol A and its structural congeners to microalgae *Chlorella*

vulgaris and *Desmodesmus armatus*. *Journal of Applied Phycology*. <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02704-3>

38. Bousoumah, R., Leso, V., Iavicoli, I., Huuskonen, P., Viegas, S., Porras, S. P., Santonen, T., Frery, N., Robert, A., & Ndaw, S. (2021b). Biomonitoring of occupational exposure to bisphenol A, bisphenol S and bisphenol F: A systematic review. *Science of The Total Environment*, 783, 146905. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146905>

39. PubChem (n.d.). Bisphenol A (C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub>; CID 6623). PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bisphenol-A>

40. *Nostoc linckia* Bornet ex Bornet & Flahault: *AlgaeBase*. (б. д.). *AlgaeBase: Listing the World's Algae*. [https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species\\_id=30130](https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=30130)

41. *Nostoc commune* Vaucher ex Bornet & Flahault: *AlgaeBase*. (б. д.). *AlgaeBase: Listing the World's Algae*. [https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species\\_id=24479](https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=24479)

# ДОДАТКИ

## Техніка безпеки в лабораторії біотехнологічного профілю

При проведенні робіт у біотехнологічній лабораторії потрібно ретельно дотримуватись вимог, наведених в інструкції з техніки безпеки. Якщо студент не ознайомлений з зазначеними вимогами, він повинен повідомити про це викладача.

Студент несе персональну відповідальність за власну безпеку під час виконання експериментальних робіт у лабораторії, що підтверджено його особистим підписом у журналі з техніки безпеки.

У лабораторію забороняється входити у верхньому одязі. Усі студенти повинні працювати в чистих бавовняних халатах, які мають бути застебнуті на всі гудзики. Волосся необхідно прибрати з обличчя та сховати під шапочку. У лабораторії кожен працює на постійному місці та виконує завдання індивідуально. На робочому місці потрібно підтримувати зразковий порядок.

Під час виконання лабораторної роботи категорично забороняється користуватися мобільними телефонами та залишати їх увімкненими. У лабораторії забороняється вживати їжу та напої.

До роботи у біотехнологічній лабораторії не допускаються студенти, які мають пошкодження на відкритих ділянках шкіри, не оброблені та не заклеєні бактерицидним пластиром.

Працюючи з відкритим полум'ям (газовий пальник, спиртівка), потрібно дотримуватися таких вимог: запалювати спиртівку та газовий пальник лише за допомогою сірника, гасити запалену спиртівку потрібно, закривши доступ повітря спеціальним ковпачком, а газовий пальник – перекриттям доступу газу. Розташовувати спиртівку потрібно на відстані не менш, ніж 20 см від краю робочого стола. У разі випадкового займання

ватно-марлевого корка необхідно терміново загасити його, закривши доступ повітря.

Під час роботи з живими культурами мікроорганізмів необхідно слідкувати за наявністю запобіжних ватних тампонів у піпетках та ватномарлевих корків у пробірках. У випадку потрапляння мікробного матеріалу на відкриті ділянки шкіри, стіл чи підлогу це місце треба ретельно обробити дезінфікувальним розчином та ретельно промити водою.

Роботу у мікробіологічному боксі дозволено проводити лише за проходження додаткового інструктажу з техніки безпеки, наявності відповідного захисного одягу (халат, шапочка, захисна маска та захисні окуляри).

Категорично забороняється заходити у бокс за увімкненої бактерицидної лампи.

Всі предмети, використані у роботі з живими мікроорганізмами, мають бути знезаражені фламбуванням (петлі, голки), кип'ятінням (пробірки, чашки Петрі), обробленням дезінфікувальними розчинами (шпателі, піпетки, предметні й накривні скельця). Забороняється користуватися скляним посудом, що має сколи, тріщини, гострі краї.

У лабораторії необхідно дотримуватися обережності під час роботи з хімічними речовинами. При потребі (робота з концентрованими хімічними речовинами) потрібно використовувати засоби індивідуального захисту (рукавички, респіратори, гумовий фартух, захисні окуляри). У процесі розведення концентрованої кислоти необхідно кислоту вносити у розчинник, а не навпаки. У випадку потрапляння будь-яких хімічних речовин на шкіру необхідно змити реактив великою кількістю води; нейтралізувати кислоту необхідно слабким розчином соди, а луг – слабким розчином оцтової кислоти.

Роботу з концентрованими та леткими хімічними речовинами необхідно проводити під витяжною шафою.

Необхідно суворо дотримуватися вимог електробезпеки. Забороняється користуватися несправним електрообладнання і вмикати прилади без дозволу викладача або лаборанта, а також торкатися поверхні приладу мокрими руками.

Після закінчення роботи студент повинен упорядкувати робоче місце, руки необхідно ретельно вимити, а за потреби обробити дезінфікувальним розчином. Слід мати індивідуальний рушник або серветки для витирання рук.

## **Публікації за результатами дослідження**