

УДК 547.56:547.281.1

**ВПЛИВ ФЕНОЛУ ТА ФОРМАЛЬДЕГІДУ НА  
ПІГМЕНТОСИНТЕЗУВАЛЬНУ ЗДАТНІСТЬ ВОДНИХ  
МІКРООРГАНІЗМІВ**

*Волошина О.М., Крупей К.С.*

*Запорізький національний університет*

*aleksandra.voloshina.2012@mail.ru*

В работе представлены данные о влиянии фенола и формальдегида на синтез пигментов у дрожжей рода *Rhodotorula*, а именно: *Rh. aurantiaca* Y-1195, *Rh. glutinis* Y-1335, *Rh. rubra* RA-10 и бактерий *Serratia marcescens* MP-141. Полная потеря пигмента у бактерий *Ser. marcescens* MP-141, дрожжей *Rh. rubra* RA-10, *Rh. aurantiaca* Y-1195, *Rh. glutinis* Y-1335 наблюдалась при концентрациях фенолов, что на 25, 55,5, 25, 66,6 % ниже уровня тех концентраций, которые полностью блокировали рост микроорганизмов. Культура *Rh. glutinis* Y-1335 оказалась наиболее чувствительной к «фенольному» стрессу и имела наибольший концентрационный интервал между потерей пигмента и задержкой роста. Формальдегид проявил очень сильное токсическое действие на дрожжи рода *Rhodotorula* и бактериальные клетки *Ser. marcescens* MP-141: рост и образование пигмента культурами не наблюдались даже при концентрациях, которые соответствуют ПДК формальдегида в водных объектах хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования (0,05 мг/дм<sup>3</sup>). Способность микроорганизмов к потере пигмента при разных концентрациях фенолов может быть использована в биоиндикационных исследованиях.

*Фенол, формальдегид, пигмент, дрожжи, бактерии, биоиндикация.*

Феноли є одними з найбільш поширених забруднювачів, що надходять у поверхневій воді зі стоками підприємств. Скидання фенольних вод у водойми і водотоки різко погіршує їх загальний санітарний стан, що завдає негативного впливу на живі організми. У водах феноли можуть вступати в реакції конденсації і полімеризації та утворювати складні гумусоподібні й інші стійкі з'єднання.

Фенолвмісні стічні води утворюються на коксохімічних заводах з вологи, яка виділяється шихтою та конденсату пари, витраченої на уловлювання хімічних

компонентів газоподібних речовин. Волога, що міститься в шихті, і пірогенетична волога, що утворюється в процесі коксування, вилучаються з камери разом із коксівним газом. При охолодженні газу водяні пари та феноли конденсуються [11, 12].

У стічних водах промислових підприємств вміст фенолів може перевищувати 5–10 г/дм<sup>3</sup>, (гранично допустима концентрація (ГДК) фенолу в питній воді та воді рибогосподарських водойм становить 1 мкг/дм<sup>3</sup>) [1]. Надзвичайно високі концентрації фенолу в стоках коксохімічних заводів – до 20 г/дм<sup>3</sup> (сучасний коксохімічний завод скидає у водойми щодобово до 4–10 т фенолу [3]). Перевищення природного фону за фенолом може вказувати на значне антропогенне забруднення водного середовища. У забруднених фенолами природних водах вміст їх може досягати десятки і навіть сотні мікрограмів в 1 літрі.

Вода, яка забруднена фенолами, набуває забарвлення, специфічного запаху карболки, покривається флуоресцентною плівкою, що заважає природному перебігу біологічних процесів у гідрологічному об'єкті. При концентрації фенолу 75 мг/дм<sup>3</sup> гальмується процес біологічного очищення водойми, а при концентраціях 0,01–0,1 мг/дм<sup>3</sup> у м'ясі риб з'являється неприємний присмак. В результаті хлорування води, яка містить феноли, утворюються стійкі з'єднання хлорфенолів, найменші сліди яких (0,1 мкг/дм<sup>3</sup>) надають воді характерний неприємний присмак і запах [6]. Токсикологічні дослідження фенолу та його чисельних похідних переважно проведені для токсико-гігієнічної характеристики [13].

Механізму протимікробної дії похідних фенолу присвячені одиничні дослідження, які стосуються переважно впливу препаратів на окисно-відновні процеси [9]. В літературі не описаний характер впливу сполук цієї групи на синтез крупних компонентів клітин, білків, нуклеїнових кислот. Недостатньо відомостей про вплив фенолів на енергетичний обмін у мікробних клітинах та інші процеси метаболізму. Слід відмітити, що фенол взаємодіє з білковими компонентами клітини бактерій, порушує

проникність цитоплазматичної мембрани, а вихід низькомолекулярних продуктів із цитоплазми супроводжується пригніченням енергетичних процесів [2].

Іншою канцерогенною речовиною є формальдегід, який широко застосовується у виробництві (медицині, металургії, машинобудівельній, легкій, хімічній і лісовій промисловості тощо). Практично весь товарний формальдегід випускається у вигляді водно-метанольних розчинів. Найбільшого поширення набув продукт, що містить 35–37 % формальдегіду і 6–11 % метанолу – формалін. Його протимікробна дія пояснюється тим, що він приєднується до аміногруп білків та викликає їх денатурацію. Формальдегід знищує всі вегетативні форми бактерій, у тому числі спори (на відміну від фенолів, які не спричиняють такого впливу на спори мікроорганізмів) [4].

Дослідження, проведені нами на бактеріях та дріжджах, показали, що стресові фактори – важкі метали – відіграють значну роль у токсичній дії на мікроорганізми [14, 10]. У попередніх роботах було встановлено, що дріжджові клітини втрачають здатність синтезувати каротиноїди із певного концентраційного рівня металів, причому між блокуванням синтезу пігменту та інгібуванням росту простежується певний концентраційний інтервал, який значно варіює для певних металів і культур [5]. Отримані результати спонукали нас продовжити дослідження і вивчити також вплив фенолу та формальдегіду на синтез пігменту в дріжджових і бактеріальних клітинах. Таким чином, метою роботи було дослідити вплив фенолу та формальдегіду на синтез пігментів у дріжджів роду *Rhodotorula* та бактерій роду *Serratia*.

#### **Матеріали та методи дослідження**

Об'єктом дослідження були пігментосинтезувальні дріжджі роду *Rhodotorula*: *Rh. aurantiaca* Y-1195, *Rh. glutinis* Y-1335 (надані нам із колекції музейних культур Інститутом мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України), *Rh. rubra* RA-10 та бактерії *Serratia marcescens*

MP-141 (надані Інститутом колоїдної хімії і хімії води ім. А.В. Думанського НАН України).

У дослідах використовували кристалічний фенол ( $C_6H_5OH$ ) та 40 %-ий розчин формальдегіду ( $CH_2O$ ) – формалін. В розплавлене тверде поживне середовище Сабуро (для дріжджів) та МПА (для бактерій) вносили різні концентрації фенолу ( $50-1000$  мг/дм<sup>3</sup>) та формаліну ( $0,05-0,9$  мг/дм<sup>3</sup>). Контролем слугували поживні середовища Сабуро та МПА без додавання речовин. Після застигання середовища на нього суцільним газоном засівали 18-годинні колекційні культури мікроорганізмів. Щільність суспензії становила  $10^7$  кл/мл. Інкубування проводили в термостаті при температурі  $27-28$  °С. Облік результатів проводили на 3 добу культивування. Спостерігали візуально, порівнюючи дослідні зразки з контролем. Втрата здатності мікроорганізмів утворювати пігмент при певних концентраційних рівнях ксенобіотиків є добре спостережуваною ознакою, тому може використовуватися в біоіндикаційних дослідженнях [7]. Для розрахунку різниці в інтенсивності кольору (між дослідними і контрольними зразками) чашки Петрі з дріжджовими та бактеріальними колоніями фотографували, розміщали фотографії у комп'ютерну програму Adobe Photoshop, визначали показники каналів кольорової моделі (Lab), потім у програмі CIEDE 2000 розраховували різницю в інтенсивності кольору пігменту [8].

#### Результати та їх обговорення

Культура *Ser. marcescens* MP-141 продукує пігмент продигіозин – один із декількох вторинних бактеріальних метаболітів, що мають незвичайну структуру, в якій метоксибіпірольний фрагмент включений у дипірометиленову структуру. Дріжджі роду *Rhodotorula* синтезують каротиноїдні пігменти (фітоїн, фітофлюїн, нейроспорин,  $\gamma$ -каротин,  $\beta$ -каротин,  $\xi$ -каротин, торулін тощо), специфічною ознакою яких є наявність хромофора, що складається із низки кон'югованих подвійних зв'язків, кількість яких визначає характер забарвлення пігменту.

Кількісний та якісний склад каротиноїдів визначає видову приналежність дріжджів, проте може змінюватися в залежності від складу поживного середовища [15].

Повна втрата пігменту у бактерій *Ser. marcescens* MP-141, дріжджів *Rh. rubra* RA-10, *Rh. aurantiaca* Y-1195, *Rh. glutinis* Y-1335 спостерігалася при концентраціях фенолу, що на 25, 55,5, 25, 66,6 % відповідно нижчі за ті концентрації, які повністю блокували ріст мікроорганізмів (рис. 1, табл. 1).

Таблиця 1 – Вплив фенолу на пігментосинтезувальну здатність прокаріотичних та еукаріотичних клітин

Table 1 – Effect of phenol on the pigment-synthesizing ability of the prokaryotic and eukaryotic cells

Концентрація фенолу, мг/дм <sup>3</sup>	<i>Serratia marcescens</i> MP-141		<i>Rhodotorula rubra</i> RA-10		<i>Rh. aurantiaca</i> Y-1195		<i>Rh. glutinis</i> Y-1335	
	Р*	П**	Р	П	Р	П	Р	П
Контроль	++++							
50	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++++	+++
100	++++	±	++++	+++	++++	+++	++++	+++
200	++++	±	++++	++	+++	++	++++	++
300	+++	±	++++	±	+++	±	++++	-
400	+++	±	++++	-	+++	±	++++	-
500	+++	±	++++	-	+++	±	++++	-
600	+++	-	++++	-	+++	-	++++	-
800	+++	-	++++	-	++	-	++++	-
900	-	-	+	-	-	-	+	-
1000	-	-	-	-	-	-	-	-

Примітка: \* ріст : +++++ – суцільний, +++ – добрий, ++ – помірний, + – слабкий, - – відсутній; \*\* пігментоутворення: +++++ – інтенсивне, +++ – добре, ++ – помірне, + – слабке, - – відсутнє, ± – спостерігалися пігментні та безпігментні колонії

Результати дослідження впливу фенолу на бактеріальну культуру *Ser. marcescens* MP-141 показали пригнічення росту культури в середовищі при концентрації 300 мг/дм<sup>3</sup> фенолу (спостерігався помірний ріст пігментних та безпігментних колоній), повністю ріст інгібувався при концентрації токсиканту в середовищі 900 мг/дм<sup>3</sup> (проте

синтез продигіозину повністю блокувався при концентрації 600 мг/дм<sup>3</sup> фенолу).

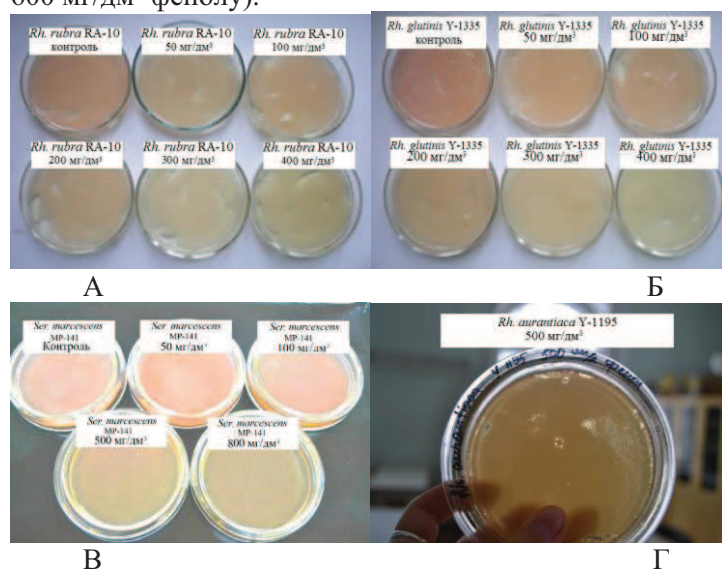


Рисунок 1 – Вплив фенолу на пігментосинтезувальну здатність мікроорганізмів: А – Вплив концентраційного ряду (50, 100, 300, 400 мг/дм<sup>3</sup>) фенолу на пігментосинтезувальну здатність *Rh. rubra* RA-10; Б – Вплив концентраційного ряду (50-400 мг/дм<sup>3</sup>) фенолу на пігментосинтезувальну здатність *Rh. glutinis* Y-1335; В – Вплив концентрації фенолу (50, 100, 500, 800 мг/дм<sup>3</sup>) на синтез пігменту колоніями бактерій *Ser. marcescens* MP-141; Г – Вплив фенолу (500 мг/дм<sup>3</sup>) на пігментосинтезувальну здатність дріжджів *Rh. aurantiaca* Y-1195.

Figure 1 – Effect of phenol on the ability to synthesis of the pigment to microorganisms: A – Effect of concentration series (50, 100, 300, 400 mg/dm<sup>3</sup>) phenol on the ability to synthesis of the pigment to *Rh. rubra* RA-10; B – Effect of concentration series (50-400 mg/dm<sup>3</sup>) phenol on the ability to synthesis of the pigment to *Rh. glutinis* Y-1335 ; B – Effect concentrations of phenol (50, 100, 500, 800 mg/dm<sup>3</sup>) on the synthesis of the pigment colonies of bacteria *Ser. marcescens*

MP-141; D – Effect of phenol (500 mg/dm<sup>3</sup>) on the ability of yeast to synthesis of the pigment to *Rh. aurantiaca* Y-1195.

Різниця в інтенсивності кольору пігменту між дослідом і контролем (dE) зростала з підвищенням концентрації фенолу в середовищі та іноді дещо зменшувалася на 6 і 9 добу культивування мікроорганізмів (у зв'язку з поновленням синтезу пігменту) (рис. 2).

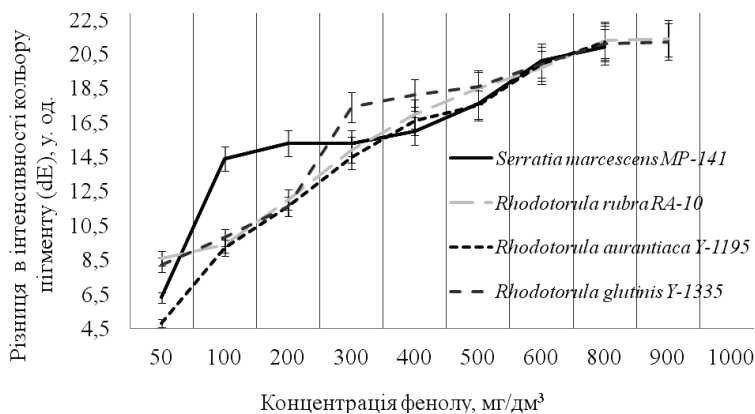


Рисунок 2 – Оцінка різниці в інтенсивності кольору пігменту колоній мікроорганізмів за дії «фенольного» стресу

Figure 2 – The estimation of the pigment's color intensity of difference colonies of microorganisms in the «phenolic» stress

Так, при концентрації 50 мг/дм<sup>3</sup> фенолу відмічався суцільний ріст пігментованих колоній (як і в контролі) *Ser. marcescens* MP-141, dE складала 6,3±0,02 ум. од. При концентрації 600 і 800 мг/дм<sup>3</sup> фенолу колонії були безпігментні, тому dE дорівнювала 20,1±1,0 та 20,9±0,7 ум. од., відповідно.

Дріжджі *Rh. rubra* RA-10 починали поступово реагувати втратою каротиноїдів при концентрації фенолу 50 мг/дм<sup>3</sup> (спостерігався суцільний ріст помірно пігментованих колоній), dE складала 8,6±0,01 ум. од. Повне

припинення синтезу пігменту було відмічене при концентрації  $400 \text{ мг/дм}^3$  фенолу (dE дорівнювала  $17,0 \pm 0,09$  ум. од.). Ріст блокувався при концентрації  $1000 \text{ мг/дм}^3$  фенолу.

У дріжджів *Rh. aurantiaca* Y-1195 за умов присутності в середовищі Сабуро фенолів також знижувалася пігментосинтезувальна активність. При концентрації  $100 \text{ мг/дм}^3$  фенолу був зареєстрований суцільний ріст помірно пігментованих колоній (dE була  $9,2 \pm 0,04$  ум. од.). Концентраційний ряд  $300\text{--}500 \text{ мг/дм}^3$  фенолу спричинив помірний ріст молочних та пігментованих колоній на чашках Петрі (dE варіювала від  $14,5 \pm 0,6$  до  $17,5 \pm 0,1$  ум. од.). Безпігментні колонії росли при концентраціях фенолу  $600$  і  $800 \text{ мг/дм}^3$  (dE дорівнювала  $19,9 \pm 0,04$  та  $21,2 \pm 0,3$  ум. од., відповідно).

Дріжджі *Rh. glutinis* Y-1335 виявилися найбільш чутливими до втрати пігменту за умов присутності в середовищі фенолу. При концентраціях  $300\text{--}900 \text{ мг/дм}^3$  фенолу синтез пігменту повністю блокувався (dE була в межах від  $17,4 \pm 0,02$  до  $21,2 \pm 1,0$  ум. од.), проте ріст починав інгібуватися лише за концентрації  $900 \text{ мг/дм}^3$  фенолу, який повністю блокувався в присутності в середовищі  $1000 \text{ мг/дм}^3$  фенолу.

Результати дослідження впливу формальдегіду на ріст та синтез пігменту бактерій *Ser. marcescens* MP-141 та дріжджів роду *Rhodotorula* показали, що навіть при концентрації формальдегіду  $0,05 \text{ мг/дм}^3$  (яка відповідає ГДК формальдегіду в водоймах господарсько-питного та культурно-побутового водокористування [1]) росту та синтезу пігменту не спостерігалось.

Отже, отримані результати щодо втрати пігментосинтезувальної здатності мікроорганізмів за дії концентраційного ряду фенолу спонукають нас продовжити дослідження з метою використання бактерій *Ser. marcescens* MP-141 та дріжджів роду *Rhodotorula* в біоіндикаційних дослідженнях.



### ВИСНОВКИ

1. Культура *Rh. glutinis* Y-1335 виявилася найбільш чутливою до «фенольного» стресу (при концентрації 300 мг/дм<sup>3</sup> фенолу синтез пігменту на 3 добу повністю інгібувався) та мала найбільший концентраційний інтервал між втратою пігменту та затримкою росту (66,6 %), внаслідок чого її можна рекомендувати для біоіндикаційних досліджень за умов забруднення середовища фенолом.

2. Повна втрата пігменту у бактерій *Ser. marcescens* MP-141 та дріжджів *Rh. aurantiaca* Y-1195 і *Rhodotorula rubra* RA-10 спостерігалася при концентраціях фенолу, що на 25, 25, 55,5 % відповідно нижчі за ті концентрації, які повністю блокували ріст мікроорганізмів.

3. Результати розрахунків різниці в інтенсивності кольору пігменту між дослідними та контрольними зразками мікроорганізмів показали, що з підвищенням концентрації фенолу зростала різниця в інтенсивності кольору пігменту (dE). Для пігментних колоній *Ser. marcescens* MP-141 dE була 6,3 ум. од., для пігментованих дріжджів роду *Rhodotorula* – у межах від 4,8 до 8,6 ум. од. Для безпігментних колоній *Ser. marcescens* MP-141 dE варіювала від 20,1 до 20,9 ум. од. Для безпігментних дріжджових клітин dE змінювалася в інтервалі 17,0–19,9 ум. од.

4. Формальдегід при концентраціях 0,05–0,9 мг/дм<sup>3</sup> повністю пригнічував ріст і синтез пігменту *Ser. marcescens* MP-141 та дріжджів роду *Rhodotorula*.

### Література:

1. Беспамятнов Г.П. Предельно допустимые концентрации химических веществ в окружающей среде: Справочник / Г.П. Беспамятнов, Ю.А. Кротов. – Л.: Химия, 1995. – 528 с.

*Bespatjatnov G.P. Predel'no dopustimye koncentracii himicheskikh veshhestv v okruzhajushhej brede : Spravochnik / G.P. Bespatjatnov, Ju.A. Krotov. – L.: Himija, 1995. – 528 s.*

2. Волянская Н.П. Противомикробная активность и фармакологические эффекты фенольных соединений /

Н.П. Волянская, И.С. Гриценко // *Annals of Mechnicov's Institute*. – № 2. – 2005. – С. 3–7.

*Voljanskaja N.P. Protivomikrobnaja aktivnost' i farmakologicheskie jeffekty fenol'nyh soedinenij / N.P. Voljanskaja, I.S. Gricenko // Annals of Mechnicov's Institute*. – № 2. – 2005. – S. 3–7.

3. Гусева Т.В. Гідрохімічні показники стану навколишнього середовища / Т.В. Гусева, Я.П. Молчанова, Е.А. Заїка [та ін.]. – К.: Либідь, 2000. – 342 с.

*Guseva T.V. Gidrohimični pokazniki stanu navkolishn'ogo seredovishha / T.V. Guseva, Ja.P. Molchanova, E.A. Zaika [ta in.]. – K.: Libid', 2000. – 342 s.*

4. Ильина Н.А. Анализ влияния различных доз формальдегида на почвенную микробиоту / Н.А. Ильина, Т.Ф. Фуфаева, Н.А. Казакова. – Ульяновск : УГПУ, 2010. – 275 с.

*Il'ina N.A. Analiz vlijanija razlichnyh doz formal'degida na pochvenniju mikrobiotu / N.A. Il'ina, T.F. Fufaeva, N.A. Kazakova. – Ul'janovsk : UGPU, 2010. – 275 s.*

5. Крупей К.С. Біоіндикативні можливості пігментсинтезувальних дріжджів роду *Rhodotorula* при забрудненні довкілля важкими металами / К.С. Крупей, О.Ф. Рильський // Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя : ЗНУ, 2014. – Вип. 19, № 2. – С. 236–245.

*Krupey K.S. Bioindikativni mozhlivosti pigmentsintezuval'nih drizhdzhiv rodu Rhodotorula pri zabrudnenni dovkillja vazhkimi metalami / K.S. Krupey, O.F. Ril's'kij // Pitannja bioindikacii ta ekologii. – Zaporizhzhja : ZNU, 2014. – Vip. 19, № 2. – S. 236-245.*

6. Матрос Ю.Ш. Каталитическое обезвреживание газов, которые отходят от промышленных производств / Ю.Ш. Матрос, А.С. Носков, В.А. Чумаченко. – Новосибирск : Наука, 1991. – 308 с.

*Matros Ju.Sh. Kataliticheskoe obezvrezhivanie gazov, kotorye othodjat ot promyshlennyh proizvodstv / Ju.Sh. Matros, A.S. Noskov, V.A. Chumachenko. – Novosibirsk: Nauka, 1991. – 308 s.*

7. Патент на винахід № 108287 Україна, МПК G01N 33/18, G01N 33/20, G01N 21/75, G01N 21/84, C12Q 1/04 (2006.01). Спосіб визначення забруднення води важкими металами / Гвоздяк П.І., Рильський О.Ф., Крупей К.С.; заявник і патентовласник ЗНУ. – № а201309338; заявл. 25.07.2013; опубл. 10.04.2015, Бюл. № 7, 2015.

*Patent na vinahid № 108287 Ukraïna, MPK G01N 33/18, G01N 33/20, G01N 21/75, G01N 21/84, C12Q 1/04 (2006.01). Sposib viznachennja zabrudnennja vodi vazhkimi metalami / Gvozdjak P.I., Ril's'kij O.F., Krupey K.S.; zajavnik i patentovlasnik ZNU. – № а201309338; zajavl. 25.07.2013; opubl. 10.04.2015, Vjul. № 7, 2015.*

8. Патент на корисну модель № 49812 Україна, МПК (2009), C12Q 1/00, C12M 1/00, C12M 1/34. Спосіб визначення інтенсивності пігментоутворення у бактерій / Рильський О.Ф., Домбровський К.О., Гороховський Є.Ю., Жиленко А.В.; заявник і патентовласник ЗНУ. – № u200912311; заявл. 30.11.2009; опубл. 11.05.2010, Бюл. № 9, 2010 р.

*Patent na korisnu model' № 49812 Ukraïna, MPK (2009), C12Q 1/00, C12M 1/00, C12M 1/34. Sposib viznachennja intensivnosti pigmentoutvorennya u bakterij / Ril's'kij O.F., Dombrovs'kij K.O., Gorohovs'kij Є.Ju., Zhilenko A.V.; zajavnik i patentovlasnik ZNU. – № u200912311; zajavl. 30.11.2009; opubl. 11.05.2010, Vjul. № 9, 2010 r.*

9. Ратникова Л.А. Торможение транспорта электронов в дыхательной цепи фенолами с низкой константой диссоциации / Л.А. Ратникова, Л.С. Ягузгинский, В.П. Скулачев // Биохимия. – 1971. – Т. 36. – Вып. 2. – С. 376–379.

*Ratnikova L.A. Tormozhenie transporta jelektronov v dyhatel'noj cepi fenolami s nizkoj konstantoj dissociacii / L.A. Ratnikova, L.S. Jaguzhinskij, V.P. Skulachev // Biohimija. – 1971. – T. 36. – Vyp. 2. – S. 376–379.*

10. Рильський О.Ф. Вірогідні механізми блокування синтезу пігментів бактерій при дії тривалого стресу / О.Ф. Рильський // Вісник Харківського національного

університету. Серія біологічні науки. – 2010. – Вип. 11, № 905. – С. 149–155.

*Ril's'kij O.F. Virogidni mehanizmi blokuвання sintezu pigmentiv bakterij pri dii trivalogo stresu / O.F. Ril's'kij // Visnik Harkivs'kogo nacional'nogo universitetu. Serija biologichni nauki. – 2010. – Vip. 11, № 905. – S. 149–155.*

11. Соколов Р.С. Химическая технология / Р.С. Соколов. – М.: ВЛАДОС, 2000. – Т. 2. – 443 с.

*Sokolov R.S. Himicheskaja tehnologija / R.S. Sokolov. – M. : VLADOS, 2000. – T. 2. – 443 s.*

12. Сысков К.И. Коксохимическое производство / К.И. Сысков, Ю.Г. Королёв. – М.: Высшая школа, 1989. – 236 с.

*Syskov K.I. Koksohimicheskoe proizvodstvo / K.I. Syskov, Ju.G. Koroljov. – M. : Vysshaja shkola, 1989. – 236 s.*

13. Елин Е.С. Фенольные соединения в биосфере / Е.С. Елин. – Новосибирск : СО РАН, 2001. – 392 с.

*Elin E.S. Fenol'nye soedinenija v biosfere / E.S. Elin. – Novosibirsk : SO RAN, 2001. – 392 s.*

14. Krupey K.S. Influence of heavy metals on the pigment synthesizing activity of the yeasts *Rhodotorula glutinis* 1333 / K.S. Krupey, A.F. Rylsky, K.O. Plotnikova // Вісник Запорізького національного університету : збірник наукових праць. Біологічні науки. – Запоріжжя: ЗНУ, 2014. – № 1. – С. 217–225.

*Krupey K.S. Influence of heavy metals on the pigment synthesizing activity of the yeasts Rhodotorula glutinis 1333 / K.S. Krupey, A.F. Rylsky, K.O. Plotnikova // Visnik Zaporiz'kogo nacional'nogo universitetu : zbirnik naukovih prac'. Biologichni nauki. – Zaporizhzhja: ZNU, 2014. – № 1. – S. 217–225.*

15. Joshi VK. Microbial Pigments / Joshi V.K, Devender Attri, Anju Bala [et al.] // Indian Journal of Biotechnology. – 2003. – Vol. 2. – P. 362–369.

#### **INFLUENCE OF PHENOL AND FORMALDEHYDE ON THE PIGMENT-SYNTHESIZING ABILITY OF THE MICROORGANISMS**

*Voloshina O.M., Krupey K.S.  
Zaporizhzhya National University  
aleksandra.voloshina.2012@mail.ru*

The usage of the pigment-synthesizing bacteria as bioindicators is a new and promising tendency. Visual observation of the change of the pigment brightness under the influence of heavy metals (HM) and other xenobiotics may serve as objective bioindicator of the environment pollution. Thus, researches of the bacteria that we carried out aroused our interest to the research of the xenobiotics influence on the pigment-synthesizing ability of the yeast. In the literature accessible for us is mentioned only the fact that yeast have the ability to sorb HM, and there is little information about the ability to change the pigment color in HM and other xenobiotics presence in the medium. As is known, exceeding of the phenol and formaldehyde concentrations in nature has an adverse effect on the ecological state of the environment, which may lead to the malfunction of physiological and biochemical processes taking place in living organisms.

Phenol is one of the most common contaminants released to surface water from wastewater enterprises. The discharge of phenolic waters in ponds and water courses sharply deteriorate their General sanitary condition that adversely affect in living organisms. Other carcinogenic substance is formaldehyde, which is widely used in production. Its antimicrobial action is due to the fact that it is attached to amino groups of proteins and causes their denaturation. Therefore, the aim of our work was to investigate the effect of phenol and formaldehyde in the synthesis of pigment in microorganisms with a view to their use in bioindication researches.

The object of the research was pigment-synthesizing yeast *Rhodotorula* genus and bacteria *Serratia marcescens* MP-141. Solid nutrient medium Sabouraud was prepared on the base of the water with certain phenol and formaldehyde concentrations. Nutrient medium Sabouraud without substances was used as a control. When Sabouraud set congeal, 18-days cultures was seeded by solid lawn on it (0,2 ml per one Petri dish). Suspension density was  $10^7$ /ml. Yeasts incubated in the

thermostat under the temperature 27–28 °C. Results were calculated on the 3<sup>d</sup> days of the cultivation. Visual observation and comparison of the experimental samples with the control was carried out. For the calculation of the color intensity difference between experimental and control samples, the Petri dishes with yeasts colonies were photographed, photos were loaded in the program Adobe Photoshop, indexes of the color model channels (Lab), and then the difference of the pigment color intensity was calculated in the program CIEDE 2000.

This article represents data on the influence of phenol and formaldehyde in the synthesis of pigments in the yeast of the genus *Rhodotorula*, namely *Rh. aurantiaca* Y-1195, *Rh. glutinis* Y-1335, *Rh. rubra* RA-10 and bacteria *Ser. marcescens* MP-141. The results of the research showed that the yeast *Rhodotorula* genus and bacteria *Ser. marcescens* MP-141 react on certain phenol and formaldehyde concentrations' presence in the medium by the loss of pigment and by the growth delay. A complete loss of pigment in bacteria *Ser. marcescens* MP-141, yeast *Rh. rubra* RA-10, *Rh. aurantiaca* Y-1195, *Rh. glutinis* Y-1335 was observed at concentrations of phenols, 25, 55,5, 25, 66,6 % below those concentrations that completely blocked the growth of microorganisms. The culture of *Rh. glutinis* Y-1335 was most sensitive to «phenolic» stress and had the highest concentration interval between the pigment loss and growth retardation. Formaldehyde showed a very strong toxic effect on the yeast of the genus *Rhodotorula* and bacterial cells *Ser. marcescens* MP-141: growth and pigment formation in cultures wasn't observed even in concentrations that correspond to the maximum allowable concentrations of formaldehyde in water objects drinking and cultural-domestic water use (0,05 mg/dm<sup>3</sup>). The ability of microorganisms to loss the pigment in different concentrations of phenols can be used in bioindication researches.