

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

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

ВПЛИВ БІСФЕНОЛУ А НА ЦІАНОБАКТЕРІЇ NOSTOC COMMUNE

Кваліфікаційна робота

Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Виконала:

студентка 4 курсу, групи 407

спеціальність

162 Біотехнології та біоінженерія

Волошнюк Адріана Костянтинівна

Керівник:

Кандидат біологічних наук, доцент

Чебан Лариса Миколаївна

До захисту допущено

на засіданні кафедри

протокол № _____ від _____ 2024 р.

Зав. кафедрою _____ проф. Копильчук Г. П.

Чернівці – 2024

Анотація

Робота була присвячена впливу бісфенолу А на ціанобактерії N. commune. Створили умови для моделювання забрудненням бісфенолу А. Проводили дослідження щодо впливу бісфенолу А на ростові процеси N. commune, визначення кількості білків та ліпідів у біомасі цього організму під впливом бісфенолу А, та зміну пігментів N. commune (хлорофілу а, каротиноїдів та фікобілінпротеїнів) на присутність цієї хімічної сполуки. Встановлено що бісфенол А у високих концентраціях призводить до адаптації N. commune.

Ключові слова:

Abstract

Ключові слова:

The work was devoted to the effect of bisphenol A on the cyanobacterium N. commune. Conditions for modelling bisphenol A pollution were created. Studies were conducted on the effect of bisphenol A on the growth processes of N. commune, determination of the amount of proteins and lipids in the biomass of this organism under the influence of bisphenol A, and changes in N. commune pigments (chlorophyll a, carotenoids and phycobilin proteins) in the presence of this chemical compound. It was found that bisphenol A in high concentrations leads to adaptation of N. commune.

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

ЗМІСТ

ВСТУП

РОЗДІЛ І. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

- 1.1. Бісфенол А як полютант водного середовища.
- 1.2. Вплив бісфенолу А на водні еукаріотичні та прокаріотичні організми.
- 1.3. Реакція ціанобактерій та водоростей на присутність бісфенолу А.

РОЗДІЛ ІІ. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

- 2.1. Матеріали дослідження
- 2.2. Методи дослідження
- 2.3. Статистична обробка результатів

РОЗДІЛ ІІІ. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

ВИСНОВКИ

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

ДОДАТКИ

Додаток А.

Техніка безпеки в лабораторії біотехнологічного профілю

Додаток Б.

Публікації за результатами дослідження

ВСТУП

Протягом останніх кількох десятиліть пластикові полімери вторглися на ринок, у повсякденне життя людей і в навколишнє середовище. Вони утворюються за допомогою великої кількості добавок, серед яких є бісфеноли (BPs). Бісфеноли - це синтетичні хімічні речовини, що використовуються в різних галузях промисловості для виробництва полікарбонатних пластиків та епоксидних смол, які застосовуються в оптиці, автомобілебудуванні, електротехніці та електроніці, побутовій техніці, будівництві, медицині, пакуванні харчових продуктів, покритті внутрішніх поверхонь, металевих бляшанок для напоїв, стоматологічних герметиків, термопаперу і тд [1].

З усіх BPs, бісфенол-А (BPA) є найпоширенішим у світі через широке застосування, зростаюче забруднення навколишнього середовища та негативний вплив на живі організми, BPA розглядається як забруднювач, що викликає все більше занепокоєння. У водному середовищі він був виявлений повсюдно в концентраціях від декількох нг/л до декількох мкг/л. BPA виявився токсичним для ряду водних організмів з різних таксонів на всіх трофічних рівнях. З точки зору фотосинтезуючих організмів, між BPA та водоростями відбувається складна взаємодія. BPA негативно впливає на водорості, пригнічуючи фізіологічні і біохімічні процеси; в той же час водорості потенційно здатні біологічно розкладатися або відновлювати BPA в навколишньому середовищі [19].

Бісфенол А (BPA) - це синтетична органічна сполука, яка використовується як проміжний продукт виробництва полікарбонатів та епоксидних смол і присутня у великій кількості у пластикових виробів, які широко використовуються в побуті та промисловості [2].

Ця речовина, присутня в навколишньому середовищі, джерелами забруднення BPA є продукти харчування, напої, а також води, повітря, пил і ґрунт [3]. Бісфенол А (BPA) потрапляє у водне середовище переважно через

розпад поліетиленових побутових товарів або скиди каналізаційних систем. Навіть у концентраціях нижче 1 мг/л, він може бути шкідливим для водних організмів [4].

Ціанобактерії, які є ключовою ланкою в харчових ланцюгах водних екосистем і сприяють їх біорізноманіттю та стійкості, швидко реагують на різні хімічні забруднювачі. Вони адаптуються до змінених умов через низку фізіологічних та метаболічних реакцій. Як синтетична органічна речовина, бісфенол А може стимулювати процеси цвітіння у водоймах.

Nostoc commune - це вид нетоксичних ціанобактерій, який широко використовується для біотестувань. Цей вид зустрічається в природних водоймах, таких як прісні водойми, болота, а також у ґрунтах. *N. commune* відіграє важливу роль в екосистемах, беручи участь у фіксації атмосферного азоту та інших біологічних процесах [5].

Отже, метою даної роботи було проаналізувати вплив бісфенолу А на ціанобактерії *N. commune*.

Для реалізації даної мети були поставлені наступні завдання:

1. Змодельовати забруднення бісфенолом А водних екосистем та провести інкубацію *N. commune* за таких умов.
2. Визначити вплив бісфенолу А на ростові процеси *N. commune*.
3. Визначити кількість білків та ліпідів у біомасі *N. commune* за впливу бісфенолу А.
4. Встановити реакцію пігментів *N. commune* (хлорофілу а, каротиноїдів та фікобілінпротеїнів) на присутність бісфенолу А.

РОЗДІЛ І

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Бісфенол А як полютант водного середовища

Протягом останніх десятиліть значна увага науковців спрямована на вивчення негативного впливу нових хімічних сполук на навколишнє середовище та на здоров'я людини, зокрема бісфенолу А (ВРА). Ця речовина, поширена як хімічний забруднювач, що діє як ендокринний руйнівник і може впливати на метаболічні та запальні функції живих організмів [3].

Бісфенол-А [2,2-біс(4-гідроксифеніл) пропан (ВРА)] - синтетична органічна сполука, що складається з двох фенольних кілець, з'єднаних метильними функціональними групами. Вона має багато промислових застосувань, зокрема у виробництві епоксидних смол та полікарбонатних пластиків. Близько 27% епоксидних смол та 71% пластмас на основі полікарбонату містять ВРА як сировину. Як наслідок, ВРА знаходить своє застосування у багатьох продуктах, таких як водопровідні труби, медичне обладнання, труби, покриття та пакувальні матеріали, термопапір, електрообладнання та численні інші продукти на основі пластику[4].

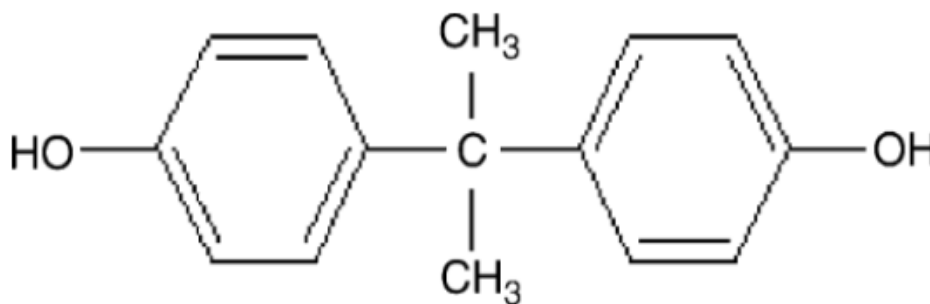


Рис.1.1. Хімічна структура бісфенолу А [13]

Таблиця 1.1.

Фізико-хімічні властивості бісфенолу А

Молекулярна формула	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Молекулярна маса	228.287
Густота	1,14-1,195 г/мл при 20 °С-25 °С
Постійна дисоціації, рКа	10.29 ± 0.69
Коефіцієнт біоконцентрації (BCF)	220-344 ^a , 5.1-73.4 ^b
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 ⁻¹¹ 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 + 6 Па (приблизно)
Теплота згоряння	-7,465 Дж/кмоль (приблизно)
Постійна швидкість реакції гідроксильних радикалів	8,1 × 10-11 см ³ /molec-sec при 25°С (приблизно)
Тиск пари	4,0 × 10-8 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)

Діапазон описаний у програмі EPI Suite Агентства з охорони навколишнього середовища США, програмі оцінки фізичних/хімічних властивостей та екологічної долі (U.S. Environmental Protection Agency for Estimation Programs Interface (EPI) Suite v4.11, November, 2012).

Діапазон, опублікований у банку даних про небезпечні речовини TOXNET Національного інституту охорони здоров'я США, представляє значення для водних організмів у рецензованих статтях [6]

Світове споживання бісфенолу А (ВРА) суттєво зросло за останні роки: у 2008 році воно становило 5,2 млн тонн, у 2015 році досягло 7,7 млн тонн, а у 2016 році — вже 8 млн тонн. За оцінками, його виробництво продовжило зростати і досягло 10,6 млн тонн у 2022 році. Це зростання пояснюється широким застосуванням ВРА у різних продуктах [7].

Таб. 1.2.

Ілюстрація найбільш поширених джерел ВРА та його концентрації в навколишньому середовищі, продуктах харчування, напоях, контейнерах та інших джерелах [3]

Джерела забруднення ВРА	Концентрація ВРА (діапазон)
Водне середовище	8–21 нг/мл
Повітря	2–208 нг/м ³
Пил	0,8–10 мкг/г
Термопапір	54–79 мкг/см ²
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

Крім того, під час пандемії, спричиненої *Covid-19*, велика кількість пластику споживається як захисне спорядження, що призводить до значної кількості пластикових відходів. Ці відходи потрапляють у навколишнє середовище та піддаються розщепленню та вилуговуванню своїх добавок, а саме ВРА та нонілфенолу, які потрапляють у водне русло, а отже, і в харчовий ланцюг [8].

Як наслідок такого високого щорічного виробництва ВРА та його широкого застосування в хімічній промисловості протягом понад 50 років, призвело до того, що його викиди були виявлені в різних компонентах навколишнього середовища, включаючи повітря, воду, ґрунт, біоту, а також в організмі людини. Через широке застосування, забруднення навколишнього середовища та токсичність для живих організмів (особливо ендокринні порушення), ВРА розглядається як забруднювач, що викликає все більше занепокоєння. Через зростаюче занепокоєння щодо його токсичності та частоті присутності в навколишньому середовищі, деякі країни заборонили використання ВРА для певних конкретних застосувань [9].

Оскільки морське пластикове сміття стає темою, що викликає все більше занепокоєння, науковий інтерес до впливу цього сміття на навколишнє середовище значно зріс. За останнє десятиліття кількість наукових публікацій, присвячених цій темі, досягла понад 37 200 . У водному середовищі це пластикове сміття накопичується і розкладається різними способами (наприклад, біодеградація, гідроліз), утворюючи дрібніші частинки, які називають мікропластиком . Період напіврозпаду ВРА у поверхневих водах в аеробних умовах і при екологічно значущих концентраціях від 0,05 до 0,5 мкг/л є дуже коротким (3-6 днів) [4]. Крім того, мікропластикові фрагменти вивільняють шкідливі сполуки , пов'язані з похідними сполуками або пластиковими добавками, основними з яких є фталеві ефіри, бісфенол та полібромовані дифенілові ефіри. У кількох дослідженнях повідомляється про наявність цих сполук у морському середовищі в концентраціях від 0,1 до 10 мкг/л в естуаріях , <0,1 мкг/л у лагунах, ≤0,1-6 мкг/л у прибережних морських водах та <0,1 мкг/л в океані [10].

Оскільки, бісфенол А асоціюється з хімічними речовинами, що порушують роботу ендокринної системи , багато досліджень підкреслили небезпечний вплив на морські організми . Він може бути згубним для водних організмів у дозах нижче 1 мкг/л. ВРА потенційно впливає на фізіологію, ріст,

метаболізм та розмноження риб, ракоподібних , безхребетних , морських ссавців та водоростей [20].

Основним джерелом надходження ВРА у поверхневі води є виробничі підприємства, що синтезують ВРА та використовують його як сировину, звалища, стічні води та стоки, очисні споруди, а також через викиди каналізаційних систем. Це пов'язано з тим, що ця речовина не піддається ефективному розкладанню за допомогою традиційних процесів на очисних спорудах. Таким чином, ВРА зазвичай виявляється у водному середовищі [2].

Здатність ВРА вимиватися з продуктів, що його містять, у поєднанні з ризиками для здоров'я, які він становить для людини, привернула до нього особливу увагу. Так, Європейське агентство з безпеки харчових продуктів (EFSA) знизило допустиму добову норму споживання бісфенолу з 50 до 4 мкг/кг маси тіла на добу. А в 2017 році Європейське хімічне агентство (ECHA) додало ВРА до списку речовин, що викликають дуже велике занепокоєння. Влада також запропонувала заміну ВРА безпечнішими, на їхню думку, аналогами. Під тиском влади було розроблено понад 200 аналогів ВРА як потенційно безпечніші альтернативи для заміни ВРА в промисловості та на ринку. Прикладом найпоширеніших аналогів ВРА є - бісфенол S (BPS), бісфенол F (BPF) і бісфенол В (BPВ), хоча їхня безпечність також піддається сумніву [1, 11].

Європейські дослідження поверхневих вод свідчать про концентрації ВРА в межах від 0,5 до 21 мкг/л. Вміст ВРА у фільтраті звалищ може бути ще вищим - 5,4 мкг/л і навіть до 17,2 мкг/л ВРА [4]. Стічні води з виробництв, що використовують ВРА як сировину, є основною причиною забруднення ВРА у воді, оскільки вони містять ВРА навіть після очищення. Зазвичай більша частина ВРА у стічних водах (майже 90%) видалається на очисних спорудах, але деяка його частина залишається там і після очищення. Також, дослідження показують, що на очисних спорудах по всьому світу концентрації ВРА варіюються від невизначуваних до 370 мкг/л. З отриманих значень видно, що

такі концентрації можуть спричинити несприятливий вплив на водні організми [12].

Після потрапляння в навколишнє середовище кілька біотичних і абіотичних механізмів розсіюють і розкладають ВРА. У воді він може піддаватися біодеградації, фотодеградації та адсорбції на зважених речовинах, але зазвичай не гідролізується і не випаровується. Залежно від переважаючих умов, таких як рН, каламутність і турбулентність води, період напіврозпаду ВРА у воді коливається від 66 годин до 160 днів. У водних середовищах ВРА може піддаватися світлоіндукованій трансформації шляхом фотокаталізу або фотоокислення після поглинання випромінювання в УФ-діапазоні або взаємодії з гідроксильними радикалами відповідно. Під час фотолізу фотони поглинаються деградуючими хімічними речовинами, які ініціюють їх хімічний розпад. Проміжними продуктами фотолізу ВРА є фенол, 4-ізопропілфенол та напівхінонове похідне ВРА [4].

1.2. Вплив бісфенолу А на водні еукаріотичні та прокаріотичні організми

Бісфенол А (ВРА) є відомим ендокринним руйнівником, що може мати різноманітні токсичні ефекти на живі організми. Вплив бісфенолу А на водні еукаріотичні та прокаріотичні організми можна розглянути з різних аспектів, які детально розкривають механізми токсичності та екологічні наслідки.

Фітопланктон, який є основою харчового ланцюга у водних екосистемах та забезпечує первинну продукцію, може страждати від пригнічення росту, що призводить до зменшення його біомаси та зниження ефективності фотосинтезу. Це може викликати зменшення рівня кисню у воді, що є життєво важливим для інших організмів. Крім того, дослідження виявили, що ВРА може спричиняти пошкодження ДНК у деяких видів фітопланктону, впливаючи на їх генетичну стабільність та зменшуючи адаптивні можливості [22].

Зоопланктон також зазнає впливу ВРА, що може знижувати їх репродуктивну здатність, зменшуючи кількість нащадків і їхню життєздатність. Це може спричинити зменшення чисельності популяцій зоопланктону, впливаючи на весь харчовий ланцюг. У високих концентраціях ВРА може бути токсичним для зоопланктону, спричиняючи їхню загибель. Зоопланктон відіграє ключову роль у трансформації енергії в екосистемах, тому його зменшення може мати серйозні екологічні наслідки [11].

ВРА може спричиняти гормональні розлади у риб, наслідком чого можуть бути зміни у їх репродуктивній системі, статевій диференціації та якості сперми та яйцеклітин. Це також може призводити до аномалій у розвитку риб. Вплив ВРА може змінювати поведінку риб, включаючи зміни у харчових звичках, зниження активності та агресивності, що впливає на їхню здатність до виживання та розмноження [27].

Вплив ВРА також розповсюджується на водні рослини. Затримка їх росту може негативно впливати на водні екосистеми в цілому, оскільки ці рослини відіграють важливу роль у підтримці якості води, створенні середовища для багатьох організмів та регулюванні вмісту поживних речовин. Бісфенол А може викликати збільшення рівня окислювального стресу у водних рослин, що може призвести до пошкодження клітин і зменшення їх життєздатності [28].

Прокаріотичні організми також піддаються впливу ВРА. Бактерії, які відіграють ключову роль у розкладанні органічних речовин, кругообігу поживних речовин і підтримці екологічного балансу, можуть зазнавати інгібування росту, що змінює мікробні спільноти у водних екосистемах. ВРА також може викликати генотоксичні ефекти у бактерій, що впливає на їх здатність до розмноження і виживання. Це може спричинити зміни у структурі мікробних спільнот і впливати на функціонування екосистем [29].

Ціанобактерії, які є важливими виробниками кисню і грають значну роль у підтримці біогеохімічних циклів, також зазнають впливу ВРА. Він може знижувати ефективність фотосинтезу у ціанобактерій, що впливає на

продукцію кисню у водних середовищах. ВРА може впливати на метаболічні процеси у ціанобактерій, що може змінювати їхню екологічну роль у водних системах, впливаючи на продукцію органічних речовин і кругообіг поживних елементів [4].

Вплив ВРА на різні організми може призвести до змін у складі та структурі водних екосистем. Зменшення чисельності одних видів і збільшення чисельності інших може змінювати екологічну рівновагу і біорізноманіття. Зміни в чисельності та здоров'ї фітопланктону, зоопланктону, риб та інших організмів можуть впливати на трофічні взаємодії у водних екосистемах, змінюючи структуру і функціонування екосистем. ВРА може накопичуватися у харчових ланцюгах, що може мати довгострокові наслідки для вищих трофічних рівнів, включаючи людей. Токсичні ефекти ВРА можуть проявлятися через біоаккумуляцію, збільшуючи ризики для здоров'я [13].

Таким чином, бісфенол А є серйозною загрозою для водних еукаріотичних та прокаріотичних організмів, а також для екосистем, в яких вони мешкають. Його негативні ефекти охоплюють широкий спектр біологічних процесів і можуть призводити до значних екологічних і економічних втрат.

Також, бісфенол А може мати негативний вплив на людину внаслідок його потенційних токсичних властивостей. Дослідження показали, що бісфенол А може мати негативний вплив на різні системи організму людини, включаючи ендокринну, нервову, імунну та репродуктивну системи. Він може викликати деякі гормональні розлади, впливати на розвиток певних захворювань, таких як цукровий діабет, астма, рак молочної залози, а також впливати на репродуктивну функцію [17, 18].

Особливо вразливі до впливу бісфенолу А є діти, вагітні жінки та люди зі зниженою імунною системою. Тому важливо уникати контакту з цією речовиною, дотримуватися безпечних методів зберігання і приготування їжі, а також обирати продукти, які не містять бісфенол А у пакувальних матеріалах [16].

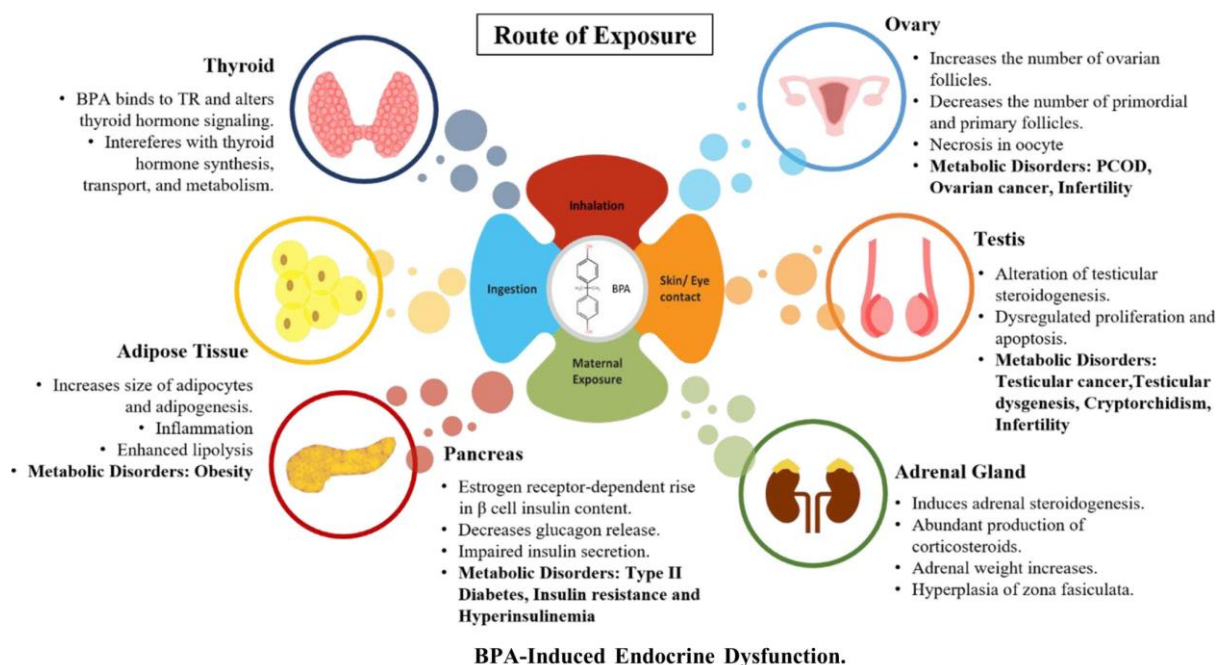


Рис.1.2 Ендокринна дисфункція у людей спричинена бісфенолом А [14]

1.3. Реакція ціанобактерій та водоростей на присутність бісфенолу А

Бісфенол А (ВРА) є хімічною сполукою, яка, потрапляючи у водні екосистеми, може мати негативний вплив на різні організми, включаючи ціанобактерії та водорості. Ці організми є первинними продуцентами у водних харчових ланцюгах і відіграють дуже важливу роль у загальному функціонуванні та структурі як прісноводних, так і морських екосистем. Вони неминуче піддаються впливу різних забруднювачів, включаючи ВРА, який потрапляє у водне середовище [4].

Ціанобактерії, відомі також як синьо-зелені водорості (лат. *Cyanobacteria*) – є найбільшою та найважливішою групою живих організмів на Землі за впливом на біосферу, складаючи 90% від загальної живої маси. Як значна частина океанічного планктону, ціанобактерії є початком багатьох харчових ланцюгів і виробляють більшу частину кисню. Практичне значення ціанобактерій полягає в тому, що вони є джерелом багатьох цінних хімічних,

біологічно активних і поживних речовин, пігментів, вітамінів, які широко використовуються в харчовій промисловості та медицині.

Ціанобактерії це велика група грамнегативних бактерій значних розмірів, характерною особливістю яких є здатність до фотосинтезу. Вони є найбільш складно організованими і диференційованими прокаріотами. Сьогодні в альгології відомо понад 150 родів і близько 1000 видів ціанобактерій, тоді як бактеріологи нараховують близько 400 штамів [23].

Ціанобактерії зустрічаються у морях та прісних водоймах, на ґрунтовому покриві, і можуть утворювати товсті багат шарові покриви на різних поверхнях. Вони є основними причинами "цвітіння" води, що може призвести до масової загибелі риб та отруєння тварин і людей. Ці організми мають різноманітну морфологію, з розмірами клітин від 1 до 100 мікрметрів і змінюють своє забарвлення від салатого до темно-синього відповідно до співвідношення фотосинтетичних пігментів. Ціанобактерії можуть бути одноклітинними або багатоклітинними, розмножуватися поділом чи спорами. Вони також відомі своєю здатністю до фіксації азоту, а при сприятливих умовах їхній життєвий цикл може тривати 6–12 годин [30].

Nostoc commune — це макроскопічний вид нетоксичних ціанобактерій, що належить до роду *Nostoc* (рис. 1.3). Він часто зустрічається на ґрунтах, каменях, болотах, а також у прісноводних середовищах. У вологому стані *N. commune* має блакитно-зелений, оливково-зелений або коричневий колір; у сухому ж стані перетворюється на непомітний коричневий шар [5]. Особливістю колоній *N. commune* який вважається зручним об'єктом для проведення різних біотестувань, є здатність зберігати життєздатність більше 100 років після висихання. Цей вид поширений у тропічних ґрунтах, помірних поясах, а також у північних і південних полярних регіонах [21].

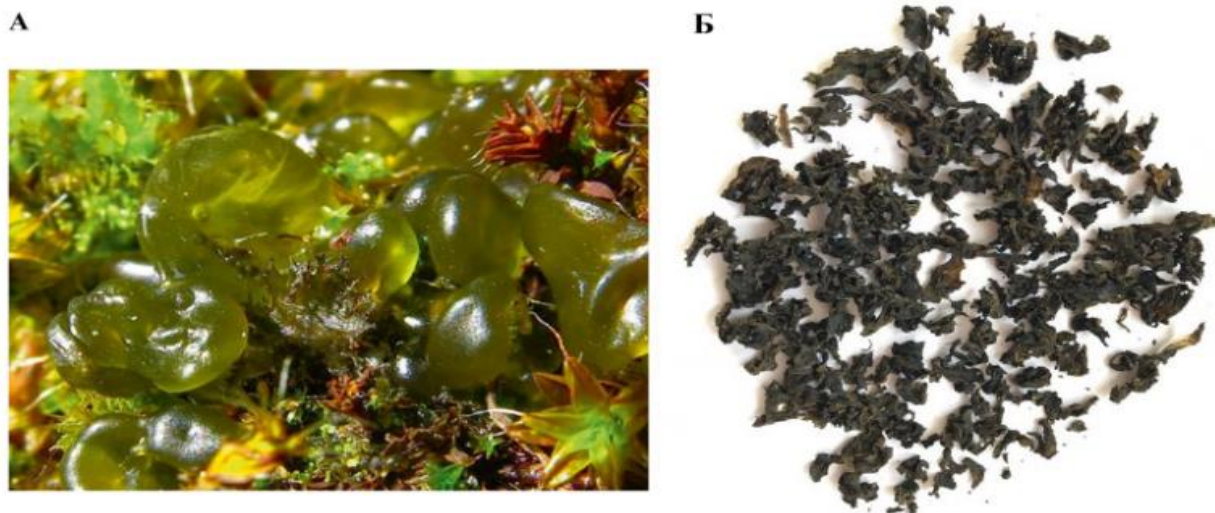


Рис.1.3. *Nostoc commune* в природньому середовищі (А) і у висушеному вигляді (Б) [24, 25]

У літній період, коли внутрішні водойми забруднюються стоками з удобрених полів через спеку, регулювання стоків річок у водосховищах призводить до збільшення рівня азоту й фосфору, що значно підвищує рівень евтрофікації. У таких умовах утворюється сприятливе середовище для масового росту ціанобактерій, що призводить до явища "цвітіння" води. Це стає причиною погіршення якості води. Збільшення температури й сонячної радіації сприяє розвитку ціанобактерій, тому вони активніше ростуть у водосховищах на півдні, ніж на півночі [31].

Встановлено, що ВРА токсичний для водоростей, пригнічуючи кілька фізіологічних та біохімічних процесів, таких як ріст клітин, фотосинтез та пігменти, що збирають світло, у різних групах водоростей [20]. Ці первинні продуценти також сприяють очищенню та відновленню водного середовища, видаляючи з води певні забруднювачі, такі як токсичні метали, інсектициди, гербіциди та фенольні сполуки. Як і багато інших органічних забруднювачів, водорості потенційно можуть поглинати, накопичувати та біологічно розкласти ВРА. Відбувається взаємодія між водоростями та ВРА, тобто ВРА негативно впливає на водорості, спричиняючи токсичність, тоді як водорості в той же час біологічно розкладають ВРА. Також він може впливати на вміст і

співвідношення фотосинтетичних пігментів у водоростях, таких як хлорофіл і каротиноїди, змінюючи спектральні характеристики поглинання світла і, відповідно, ефективність фотосинтезу [10].

Бісфенол А може впливати на метаболічні процеси ціанобактерій, змінюючи вміст білків, ліпідів і вуглеводів, що впливає на їхній ріст і розвиток, а також на здатність до утворення біоплівки, важливих для екологічних взаємодій у водних середовищах. ВРА також може викликати пошкодження ДНК у ціанобактерій, що призводить до мутацій і зниження генетичної стабільності, впливаючи на репродуктивну здатність і адаптивні можливості цих організмів [4].

Таким чином, присутність бісфенолу А у водних середовищах може мати серйозні наслідки для ціанобактерій та водоростей, порушуючи їх нормальні фізіологічні процеси і знижуючи їхню здатність до фотосинтезу і росту. Це, в свою чергу, може впливати на всю екосистему, оскільки ці організми є важливими компонентами харчового ланцюга і біогеохімічних циклів.

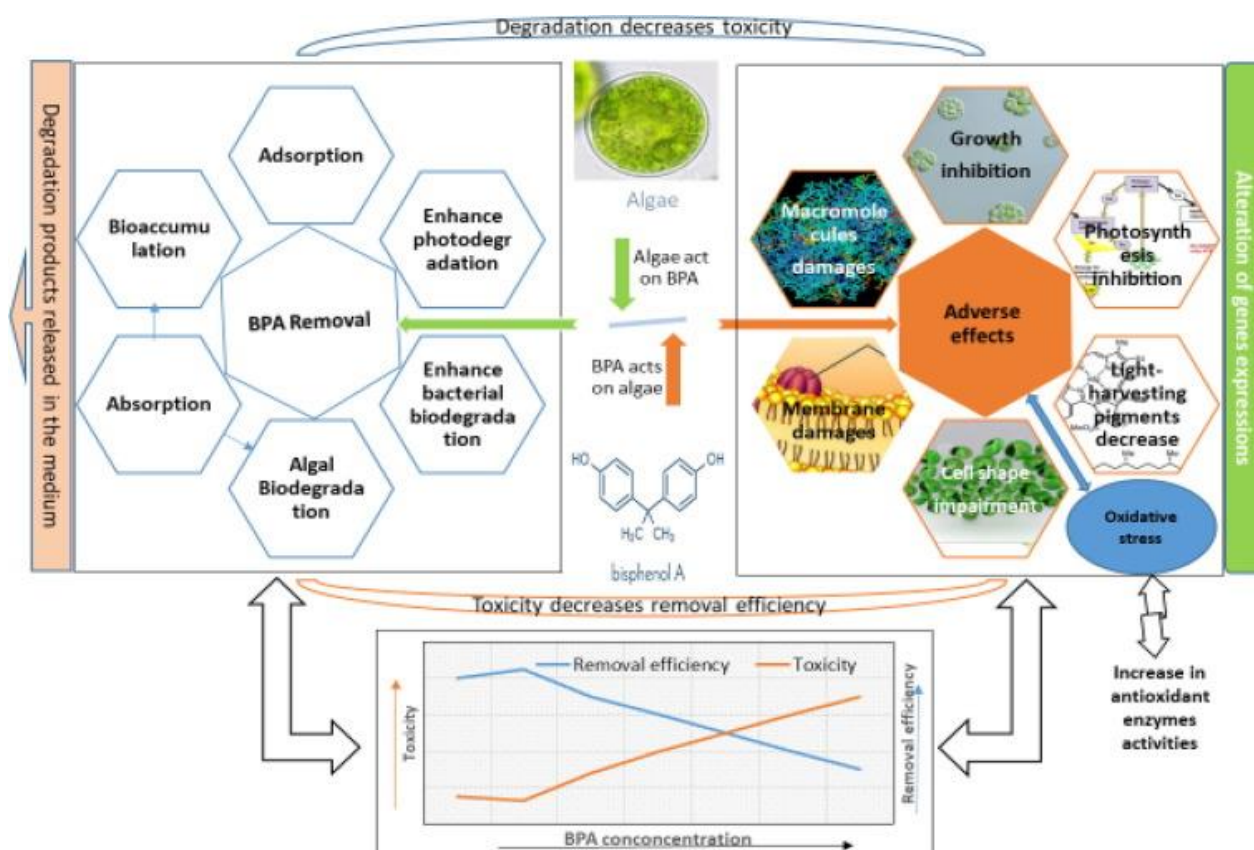


Рис. 1.3. Графічне представлення взаємодії між ВРА та водоростями. ВРА негативно впливає на різні параметри водоростей, тоді як водорості видаляють ВРА з середовища різними способами. Збільшення токсичності знижує ефективність деградації водоростями, в той час як деградація водоростями знижує концентрацію ВРА в середовищі і, отже, його токсичність. На нижньому рисунку показано, що збільшення концентрації ВРА збільшує токсичність ВРА і зменшує ефективність його видалення водоростями. При низьких концентраціях ВРА спостерігається незначний стимулюючий ефект [4]

РОЗДІЛ II

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Матеріали дослідження

Матеріалом даного дослідження служила культура ціанобактерії *N. commune* IMB K-19, яка знаходиться в колекції кафедри біохімії та біотехнології ЧНУ і підтримується у стерильних умовах .

Культивування проводили у колбах Ерленмеєра ємкістю 250 мл, далі накопичувальну культуру розливали по 20 мл в пробірках і по 4 повтори. До культури додавали бісфенол А у концентраціях: 1 мг/л, 2 мг/л, 5 мг/л, 10 мг/л, 20 мг/л, 50 мг/л. Дані концентрації були вибрані орієнтуючись на інформацію з іноземної літератури щодо концентрацій ВРА у воді прісних водойм.

Тривалість впливу становила 21 добу. Відповідно, кожної 3-ої доби визначали температуру культиваційного середовища, рН та вимірювали густину культури фотоелектроколориметричним (ФЕК) методом при довжині хвилі 750 нм.

Після 21-єї доби, фугат злили, а біомасу відібрали у центрифужні пробірки, для подальших досліджень.

Далі було здійснено центрифугування при 4000 об/хв протягом 20-ти хвилин. Умови центрифугування було визначено на основі попередніх даних.

У отриманій біомасі визначали кількість білків, ліпідів, хлорофілу а, каротиноїдів та фікобілінпротеїнових пігментів: фікоеритрин, R-фікоціанін і алофікоціанін.

2.2. Методи дослідження

Визначення білків. Для визначення білків орієнтувалися згідно методики визначенням за Лоурі [26].

Екстракцію білків здійснювали 0,1 М фосфатним буфером і центрифугували при 4000 об/хв протягом 20-ти хвилин. Після центрифугування осад та надосадкову рідину відокремили, розподіливши їх у окремі пробірки.

До 0,1 мл надосадової рідини додавали 0,9 мл H₂O і 5 мл реактиву С, після чого залишили на 10 хв. Після 10-ти хвилинного періоду у кожену пробірку додавали 0,5 мл реактиву Фоліна та залишали на 30 хв. Через 30-ти хвилин вимірювали кількість білка фотоелектроколориметричним методом при довжині хвилі 780 нм. Далі визначення білка розраховували 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 [15].

Визначення ліпідів та пігментів. Проводили екстракцію осаду сумішню хлороформом : етанол у співвідношенні 2:1, протягом 72 годин без доступу світла. Через 3 доби до 0,1 мл хлороформного екстракту додавали 2 мл концентрованої H₂SO₄. Пробірки витримували на водяній бані при 100 °C протягом 10-ти хв. Після охолодження пробірок до кімнатної температури додавали у кожену пробу по 2 мл фосфованілінового реактиву та залишили їх на 25 хвилин у темному місці.

Для визначення кількості ліпідів використовували фотоелектроколориметричний метод при довжині хвилі 540 нм.

Пігменти вимірювали спектрофотометричним методом при довжині хвилі 450 нм - каротиноїди; хлорофіл А при довжині хвиль 650 нм та 665 нм; фікоеритрин , R-фікоціанін і алофікоціанін при довжинах хвиль – 545, 620 та 650 нм.

Кількість ліпідів визначали за формулою:

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

V_1 – загальний об'єм екстракта,

V_2 – об'єм екстракції взятого для аналізу,

m – маса наважки,

c – кількість ліпідів за калібрувальним графіком [15].

Вміст хлорофілу А обчислювали за формулою:

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

C – концентрація,

V – об'єм,

H – наважка [15].

Розрахунок вмісту загальних каротиноїдів проводили за формулою:

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

C – концентрація каротиноїдів,

V – об'єм екстракту,

H – наважка [15].

Вміст пігментів визначали за формулами:

$$\text{Фікоеритрин} = \frac{D545 - 0.575 * D620 + 0.246 * D650}{5.26}$$

$$R - \text{фікоціанін} = \frac{D620 - 0.666 * D650}{3.86}$$

$$\text{Алофікоціанін} = \frac{D_{650} - 0.105 * D_{620}}{4.65}$$

D - оптична густина досліджуваного розчину [15].

2.3. Статистична обробка результатів

Всі дослідження проводили у 4-х кратній повторюваності (n=4). Результати представлені як середнє значення M та відхилення від середнього значення m - (M+m).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили 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

Бісфенол А (ВРА) - це хімічна сполука, яка широко використовується у виробництві пластмас і епоксидних смол. Ця сполука знаходить застосування в різних побутових товарах, таких як упаковки для їжі, пластикові пляшки, лінзи для окулярів, а також в захисних покриттях для металевих банок. ВРА може мати значний вплив на різні живі організми, включаючи водорості, які відіграють важливу роль в екосистемах.

При впливі бісфенолу А на водорості, першою помітною реакцією є зміна їхньої ростової активності. Ця зміна може проявлятися як у збільшенні, так і у зменшенні росту, в залежності від виду водоростей та концентрації ВРА у середовищі. Таким чином, різні культури водоростей можуть по-різному реагувати на вплив цієї хімічної сполуки.

Для швидкої та ефективної оцінки ростової активності водоростей під впливом бісфенолу А використовують метод визначення оптичної густини. Цей метод дозволяє оперативно виміряти зміни в концентрації клітин водоростей, надаючи важливу інформацію про їхню реакцію на ВРА. Завдяки своїй швидкості і точності, метод визначення оптичної густини є важливим інструментом у дослідженнях, спрямованих на вивчення впливу бісфенолу А на водорості та інші живі організми.

Ми здійснили культивування *N. commune* протягом 21 доби з різними концентраціями бісфенолу А: 1 мг/л, 2 мг/л, 5 мг/л, 10 мг/л, 20 мг/л, 50 мг/л. Цей експеримент мав на меті вивчити вплив різних рівнів концентрацій бісфенолу А на ріст та розвиток водоростей. Протягом цього періоду спостерігали зміни у ростовій активності, морфологічні зміни та накопичення біомаси водоростей. Дослідження дозволило оцінити чутливість *N. commune* до бісфенолу А та визначити порогові концентрації, при яких спостерігається значний вплив на їхній ріст (рис. 3.1).

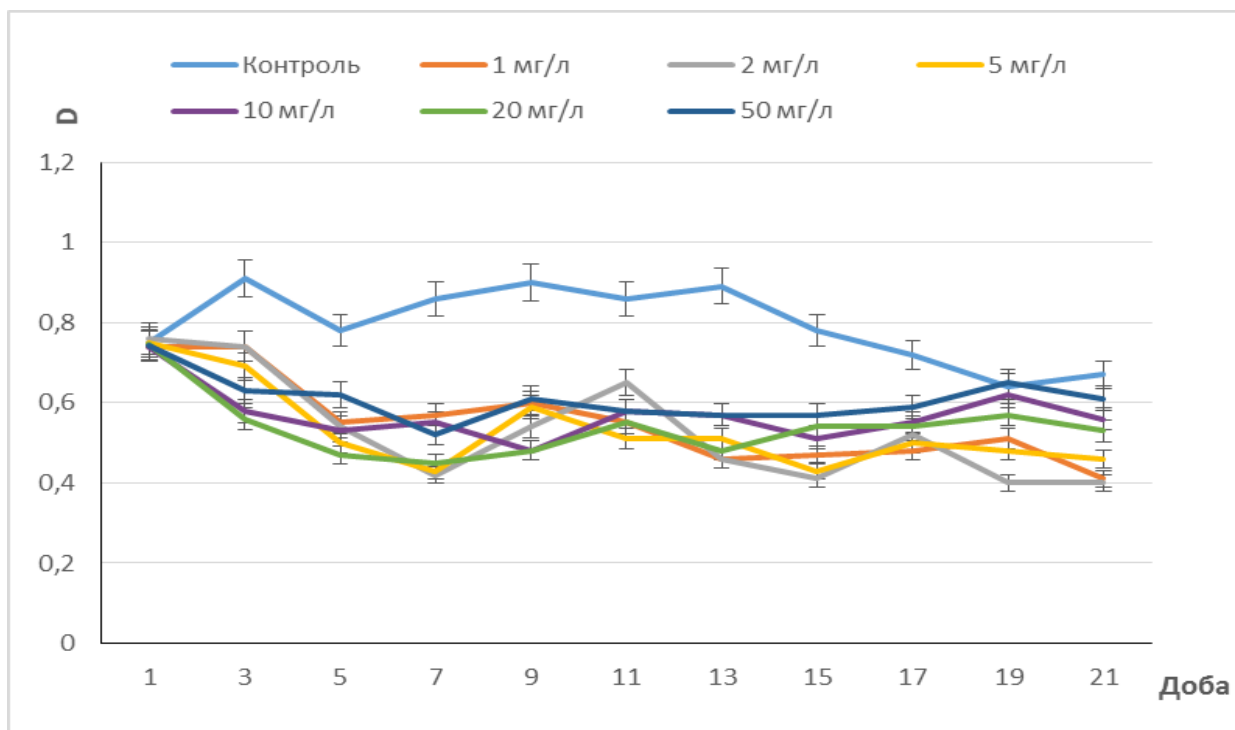


Рис. 3.1. Густина культури *N. commune* за присутності бісфенолу А

Примітка: * – достовірна відмінність відносно контрольних значень

Внаслідок біотестування щодо впливу бісфенолу А на ростову активність *N. commune* було встановлено негативний вплив цієї сполуки вже на 3-тій добі з початку культивування. Спостерігається пряма залежність між концентрацією бісфенолу А і його ефектом: чим вища концентрація бісфенолу А в культурі, тим гірше ростуть водорості. Однак, з часом культура починає адаптуватися.

Протягом усього етапу вирощування ростова активність *N. commune* не перевищувала контрольні значення, проте під кінець культивування на 17-19 добу, для концентрації ВРА: 10 мг/л, 20 мг/л і 50 мг/л, спостерігалось поступове підвищення ростової активності які на 19-21 добу досягали майже контрольних значень. Імовірно, що цей факт свідчить про адаптацію культури до бісфенолу А.

Отже, присутність бісфенолу А призводить до зниження ростової активності у всіх концентраціях. Проте, протягом тривалої експозиції спостерігається різна поведінка культури *N. commune*. При тривалій присутності бісфенолу А у воді відбувається адаптація ціанобактерії *N.*

comtine до високих концентрацій бісфенолу А (10 – 50 мг/л), що, ймовірно, може стимулювати процеси цвітіння.

При дослідженні впливу бісфенолу А спостерігається зміна вмісту білків у біомасі *N. comtine* (рис 3.2.).

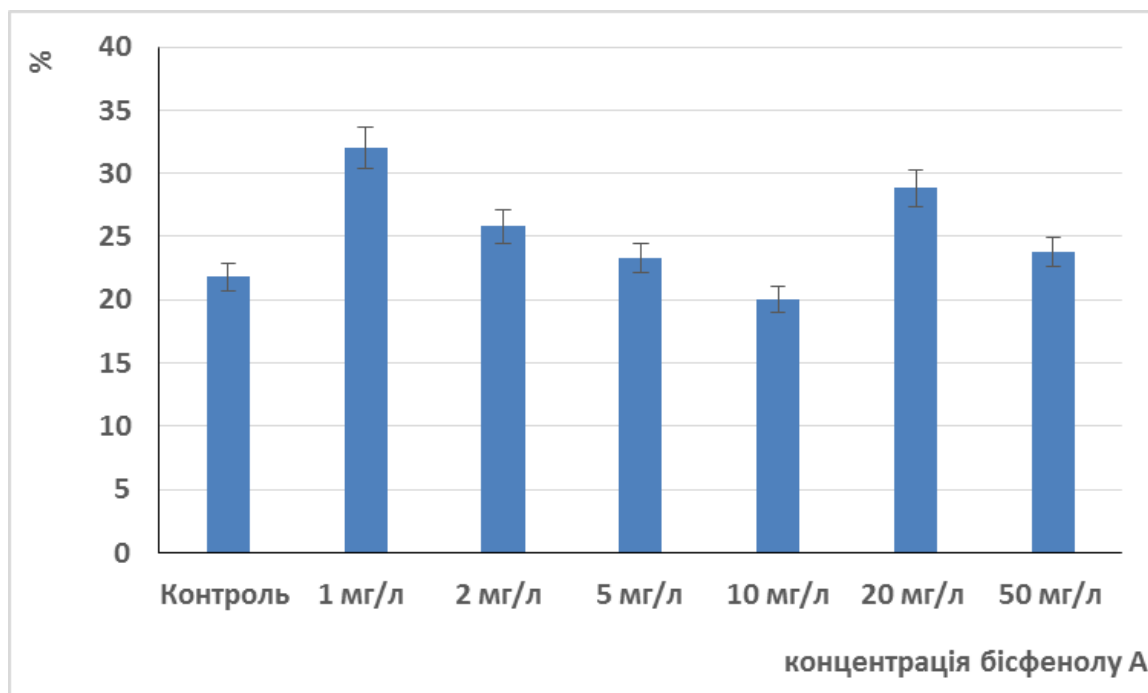


Рис. 3.2. Вміст білків у біомасі *N. comtine* за присутності бісфенолу А

Примітка: * – достовірна відмінність відносно контрольних значень

У контрольній пробі, де бісфенол А не додавався, вміст білків складав 19,8%. При додаванні бісфенолу А у концентрації 1 мг/л вміст білків збільшився до 32%. При подальшому збільшенні концентрації до 2 мг/л вміст білків зменшився до 25,8%, а при 5 мг/л до 23,3%. При подальшому зростанні концентрації до 10 мг/л вміст білків зменшився до 20,04%. При концентрації 20 мг/л вміст білків знову збільшився до 28,84%, але при 50 мг/л вміст білків становив 23,8%.

На основі отриманих даних можна зробити висновок, що вміст білків у культурі *N. comtine* змінюється в залежності від концентрації бісфенолу А. При низьких концентраціях спостерігається збільшення вмісту білків, що може бути пов'язане зі стимуляцією метаболічних процесів у водоростей. Однак, при подальшому збільшенні концентрації бісфенолу А спостерігається

зменшення вмісту білків, що може свідчити про токсичний вплив цієї сполуки на біомасу водоростей. Таким чином, концентрація бісфенолу А має значний вплив на білковий склад культури *N. commune*.

Під час дослідження присутності бісфенолу А виявлено зміни вмісту ліпідів у культурі *N. commune* (рис 3.3.).

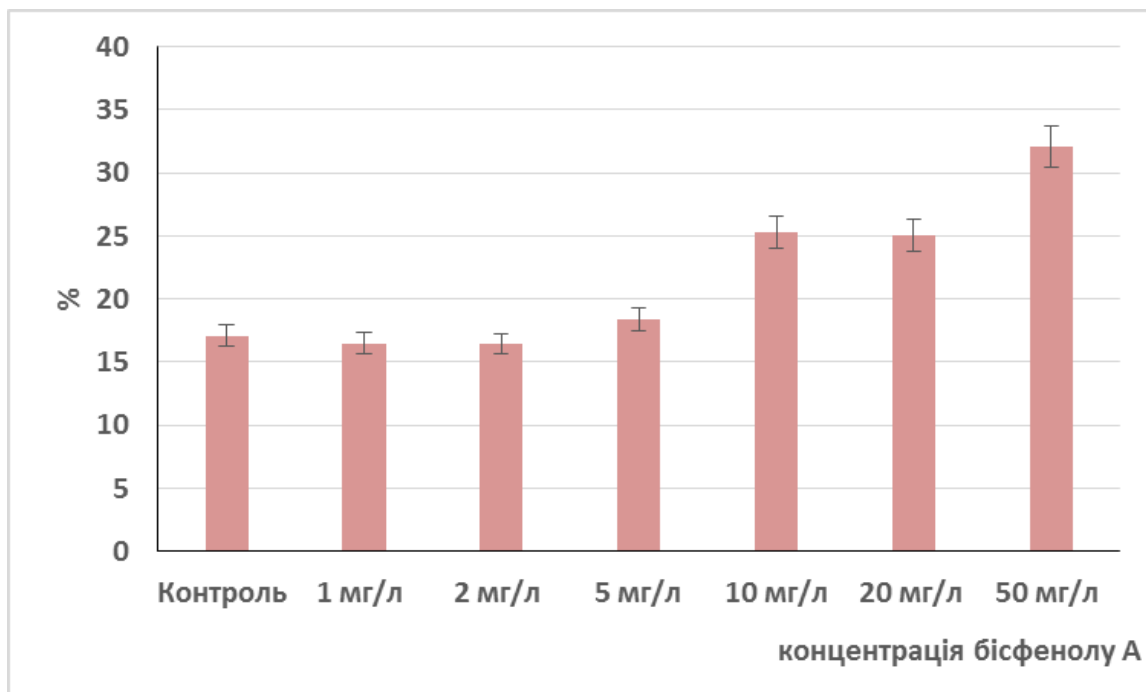


Рис. 3.3. Вміст ліпідів у біомасі *N. commune* за присутності бісфенолу А

Примітка: * – достовірна відмінність відносно контрольних значень

В контрольній пробі вміст ліпідів становив 17,9%. При низьких концентраціях бісфенолу А (1 мг/л, 2 мг/л) спостерігається незначне зменшення вмісту ліпідів у культурі *N. commune* до 16,48% та 16,43%. При подальшому збільшенні концентрації бісфенолу А (5 мг/л, 10 мг/л, 20 мг/л) вміст ліпідів зростає до 18,38%, 25,25%, 25,60%, що може свідчити про стимуляцію ліпідного синтезу у водоростей під впливом цієї речовини. Найвищий вміст ліпідів, а саме 32,60%, зафіксовано при найвищій концентрації бісфенолу А (50 мг/л).

Отже, можна сказати, що вміст ліпідів у культурі *N. commune* змінюється в залежності від концентрації бісфенолу А. При низьких концентраціях може відбуватися незначне зниження вмісту ліпідів, але при більших концентраціях

спостерігається їхнє збільшення, що може свідчити про активніші біосинтетичні процеси або адаптаційні відповіді організму на стресові умови.

У результаті дослідження впливу бісфенолу А спостерігається зміна вмісту хлорофілу А у біомасі *N. commune* (рис 3.4.).

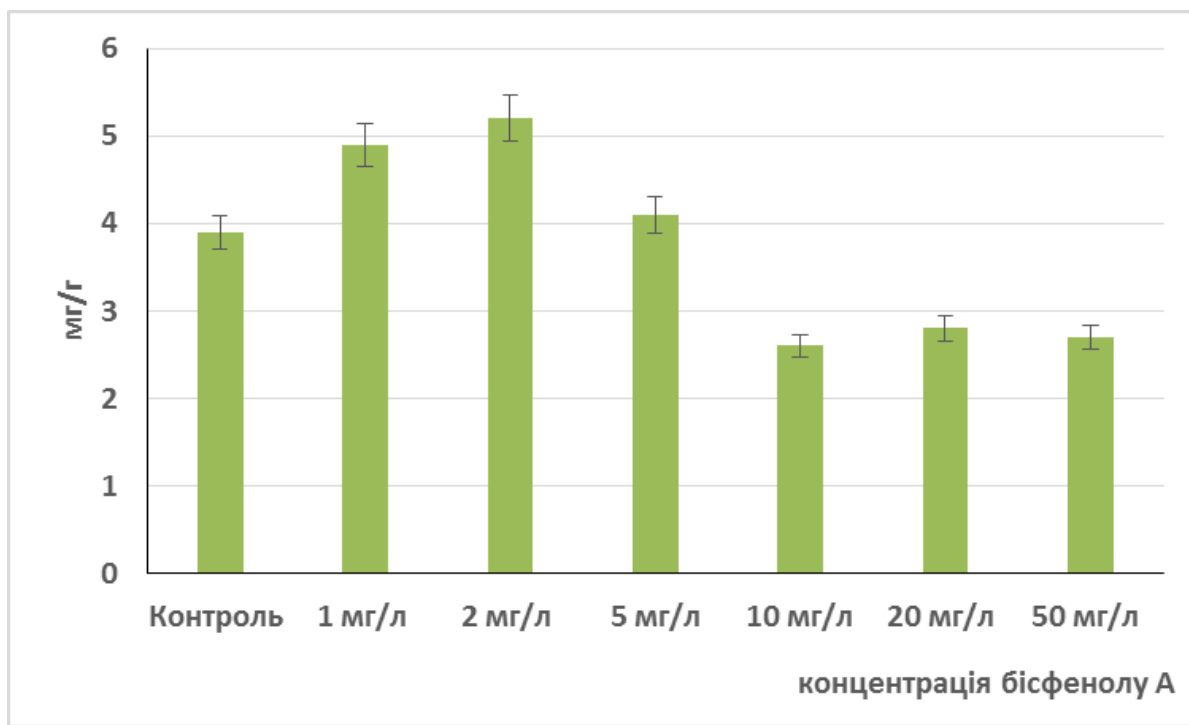


Рис. 3.4. Вміст хлорофілу А у біомасі *N. commune* за присутності бісфенолу А

Примітка: * – достовірна відмінність відносно контрольних значень

У культурі *N. commune* за умов присутності різних концентрацій бісфенолу А відбувалися зміни у вмісті хлорофілу а:

У контрольних умовах вміст хлорофілу а складав 3,9. При додаванні бісфенолу А у концентрації 1 мг/л вміст хлорофілу а збільшився до 4,9. При подальшому збільшенні концентрації бісфенолу А до 2 мг/л вміст хлорофілу а становив 5,2. Однак, при концентраціях бісфенолу А 5, 10, 20 мг/л спостерігалось зменшення вмісту хлорофілу а, відповідно 4,1, 2,6 та 2,8. При вищій концентрації бісфенолу А (50 мг/л) вміст хлорофілу а знову зроста і склав 6,7.

Ці дані вказують на те, що хлорофіл а у *N. commune* реагує на різні концентрації бісфенолу А в культурі, проявляючи адаптаційні зміни у відповідь на стресові умови.

Під час дослідження за присутності бісфенолу А спостерігається зміна вмісту каротиноїдів у біомасі *N. commune* (рис 3.5.).

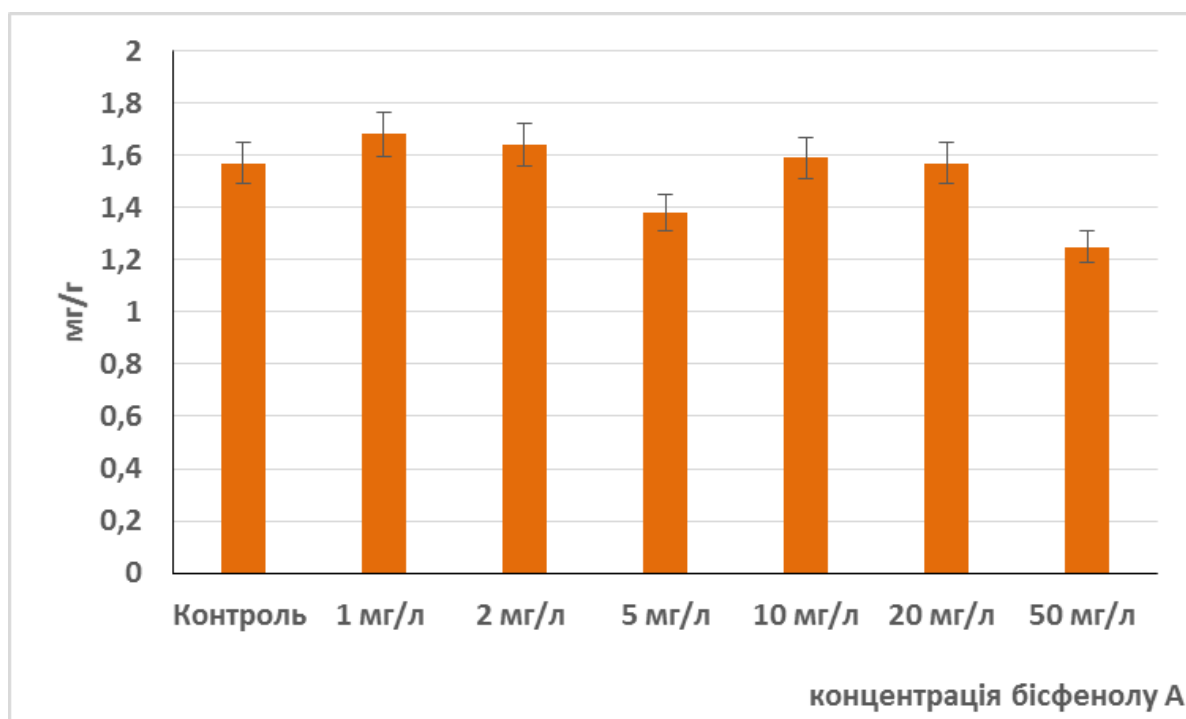


Рис. 3.5. Вміст каротиноїдів у біомасі *N. commune* за присутності бісфенолу А

Примітка: * – достовірна відмінність відносно контрольних значень

У культурі *N. commune* за умов присутності різних концентрацій бісфенолу А спостерігалися зміни у вмісті каротиноїдів:

У контрольних умовах вміст каротиноїдів склав 1,57. При додаванні бісфенолу А у концентрації 1 мг/л вміст каротиноїдів збільшився до 1,68. При подальшому збільшенні концентрації бісфенолу А до 2 мг/л вміст каротиноїдів становив 1,64. Однак, при вищих концентраціях бісфенолу А (5, 10, 20, 50 мг/л), спостерігалось значне зниження вмісту каротиноїдів: вони склали відповідно 1,38, 0,59, 0,57 та 0,25.

Ці результати свідчать про зміну метаболічної активності *N. commune* під впливом бісфенолу А, що може впливати на синтез каротиноїдів в залежності від концентрації сполуки.

Знання про склад, кількість та структурні особливості пігментів у водоростей є важливим для вирішення численних проблем, пов'язаних з фотосинтезом, біологічною різноманітністю та хемосистематикою. Унікальною особливістю пігментного складу водоростей є присутність фікобіліпротейнів, які входять до світлозбираючого комплексу хлоропластів. Ці фікобіліпротейни зустрічаються переважно у Cyanophyta (Синьо-зелені водорості), Rhodophyta (Червоні водорості) та деяких Cryptophyta (Криптофіти).

Вміст фікобіліпротейнів становить до 24% сухої маси клітини у синьо-зелених водоростей та до 40-60% маси усіх розчинних клітинних білків. Сучасні класифікаційні системи відрізняють два типи фікобілінів: "С" (з синьо-зелених водоростей) та "R" (з червоних). Дослідження показують, що фікобіліни виконують важливі функції у поглинанні та транспортуванні енергії за різних довжин хвиль. Наприклад, фікоеритрин забезпечує поглинання короткохвильового світла, тоді як алофікоціанін абсорбує довгі хвилі, утворюючи пігментно-білкові комплекси.

Згідно зі спектрами поглинання у кристалічній формі, можна виділити три типи фікобіліпротейнів:

1. *Фікоеритрини* - це білки червоного кольору, які мають максимум поглинання у діапазоні від 540 нм до 565 нм.
2. *Фікоціаніни* - це білки синьо-блакитного кольору, які мають максимум поглинання у діапазоні від 615 нм до 630 нм.
3. *Алофікоціаніни* - це білки синього кольору, які мають максимум поглинання у діапазоні від 615 нм до 650 нм [15].

Під час проведення спектрофотометричного аналізу фікобіліпротейнів були отримані наступні результати (таб. 3.1).

Таблиця 3.1.

Загальний вміст фікобіліпротеїнів у біомасі *N. commune*
($M \pm m$, $n=4$)

Варіанти	Фікоеритрин мг/г	R-фікоціанін мг/г	Алофікоціанін мг/г
Контроль	0,21±0,010	0,23±0,013	0,5±0,015
1 мг/л	0,77±0,038	0,11±0,003	0,17±0,005
2 мг/л	0,31±0,015	0,17±0,008	0,1±0,002
5 мг/л	0,81±0,031	0,10±0,002	0,23±0,011
10 мг/л	0,43±0,020	0,18±0,009	0,21±0,017
20 мг/л	0,49±0,22	0,20±0,011	0,17±0,008
50 мг/л	0,31±0,016	0,14±0,006	0,21±0,009

Примітка: * – достовірна відмінність відносно контрольних значень

В результаті дослідження впливу бісфенолу А на *N. commune* було виявлено, що рівень фікоеритрину в клітинах водоростей значно збільшується під впливом цієї хімічної сполуки порівняно з контролем (0,21).

Найбільше збільшення виявлено при концентраціях 1 мг/л (0,77) та 5 мг/л (0,81) що може свідчити про адаптивну відповідь водоростей на стресові умови, створені присутністю бісфенолу А. Цей пігмент може збільшувати свою концентрацію для підвищення ефективності фотосинтезу та забезпечення виживання водоростей у несприятливих умовах. Така адаптація може бути відповіддю на пошкодження клітин або зміну метаболічних процесів, викликаних бісфенолом А.

Збільшення рівня фікоеритрину під впливом бісфенолу А вказує на те, що *N. commune* змінює свій пігментний склад для оптимізації використання світлової енергії і компенсації негативних ефектів токсичного впливу.

Дослідження впливу бісфенолу А на водорості *N. commune* показало, що рівень R-фікоціаніну зменшується у всіх досліджуваних концентраціях. У

контрольній пробі, де бісфенол А не додавався, рівень R-фікоціаніну складав 0,23. При додаванні бісфенолу А у концентраціях 1 мг/л, 2 мг/л, 5 мг/л, 10 мг/л, 20 мг/л та 50 мг/л, рівень цього важливого фікобіліпротеїну зменшувався у всіх випадках.

Таке зменшення може бути пов'язане з токсичним впливом бісфенолу А на водорості. Бісфенол А, як відомо, може викликати оксидативний стрес, пошкодження клітинних мембран та порушення метаболічних процесів. Зменшення рівня R-фікоціаніну може свідчити про порушення синтезу цього пігменту або його деградацію під впливом стресових умов. Це, в свою чергу, може негативно впливати на ефективність фотосинтезу, оскільки фікобіліпротеїни відіграють ключову роль у поглинанні світла та передачі енергії.

Аналогічно, дослідження показали, що рівень алофікоціаніну в клітинах *N. commune* зменшується під впливом бісфенолу А у всіх досліджуваних концентраціях. У контрольній пробі, де бісфенол А не додавався, рівень алофікоціаніну складав 0,5. При додаванні бісфенолу А у концентраціях 1 мг/л, 2 мг/л, 5 мг/л, 10 мг/л, 20 мг/л та 50 мг/л, рівень алофікоціаніну зменшувався у всіх випадках.

Зменшення рівня алофікоціаніну також може бути пов'язане з негативним впливом бісфенолу А на клітини водоростей. Можливо, що бісфенол А викликає оксидативний стрес або пошкоджує механізми, відповідальні за синтез та стабільність цього пігменту. Зменшення рівня алофікоціаніну може знижувати ефективність фотосинтезу та адаптивні можливості водоростей у стресових умовах, що, в свою чергу, може призводити до зниження їхньої життєздатності та продуктивності.

Результати дослідження впливу бісфенолу А на *Nostoc commune* свідчать про те, що ця хімічна сполука значно впливає на пігментний склад водоростей, зокрема на рівень фікоеритрину, R-фікоціаніну та алофікоціаніну. У деяких випадках водорості виявляють адаптаційні механізми, що дозволяють їм

виживати та продовжувати фотосинтез у несприятливих умовах, тоді як в інших випадках вони страждають від порушень метаболічних процесів.

ВИСНОВКИ

1. Наявність бісфенолу А у середовищі знижує ростову активність культури *N. commune* у всіх апробованих концентраціях. Проте, протягом тривалої експозиції спостерігається різна поведінка культури *N. commune* залежно від концентрації бісфенолу А. Бісфенол А у концентрації 10 – 50 мг/л викликає підвищення ростової активності *N. commune* починаючи з 19 доби культивування.

2. Відмічено зміни біохімічного профілю клітин *N. commune*. Бісфенол А у концентраціях 10-50 мг/л призводить до збільшення кількості загальних ліпідів, що корелює зі зменшенням кількості хлорофілу а. У всіх варіантах дослідів встановлено підвищення кількості загальних білків у 1,1 – 1,5 рази. Достовірні відмінності у кількості каротиноїдів встановлено у варіанті з 50 мг/л бісфенолу А.

3. Присутність бісфенолу А у середовищі призводить до зміни кількості фікобілінпротеїнових пігментів. Відмічено збільшення кількості фікоеритрину у клітинах *N. commune* не залежно від концентрації бісфенолу А. Найвищі показники зафіксовані за присутності 5 мг/л бісфенолу А. На противагу цьому вміст R-фікоціаніну та алофікоціаніну достовірно знижувався у всіх варіантах дослідів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. 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*, 333, 122073.
2. Ferrer-Polonio, E., Alvim, C. B., Fernández-Navarro, J., Mompó-Curell, R., Mendoza-Roca, J. A., Bes-Piá, A., ... & Amorós-Muñoz, I. (2021). Influence of bisphenol A occurrence in wastewaters on biomass characteristics and activated sludge process performance. *Science of The Total Environment*, 778, 146355.
3. Valentino, R., D'Esposito, V., Ariemma, F., Cimmino, I., Beguinot, F., Formisano, P. (2016). 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, 259-263.
4. Azizullah, A., Khan, S., Gao, G., & Gao, K. (2022). The interplay between bisphenol A and algae—A review. *Journal of King Saud University-Science*, 34(5), 102050.
5. Ortiz-Moreno, M. L., Solarte-Murillo, L. V., & Sandoval-Parra, K. X. (2020). Analysis of Nostoc muscorum biomass production in a hydroponic system. *Orinoquia*, 24(1), 23-31.
6. 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: review and analysis of its occurrence and bioaccumulation. *Dose-response*, 13(3), 1559325815598308.
7. Ruberto, S., Buono, D., & Santovito, A. (2021). Polychaetes as bioindicators of environmental Pollution: Impact of bisphenol A on the reproduction rate of *Ophryotrocha diadema* (Åkesson, 1976)(eunicida: Dorvilleidae). *Zool. Ecol*, 31, 61-65.

8. Kyrila, G., Katsoulas, A., Schoretsaniti, V., Rigopoulos, A., Rizou, E., Doulgeridou, S., ... & Touraki, M. (2021). Bisphenol A removal and degradation pathways in microorganisms with probiotic properties. *Journal of Hazardous Materials*, 413, 125363.
9. Tišler, T., Krel, A., Gerželj, U., Erjavec, B., Dolenc, M. S., & Pintar, A. (2016). Hazard identification and risk characterization of bisphenols A, F and AF to aquatic organisms. *Environmental pollution*, 212, 472-479.
10. M'Rabet, C., Yahia, O. K. D., 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.
11. Giamaki, D., Tsiotsiou, M., Oglou, S. C., & Touraki, M. (2023). Interactions of Bisphenol A with *Artemia franciscana* and the ameliorative effect of probiotics. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 98, 104064.
12. Plahuta, M., Tišler, T., Pintar, A., & Toman, M. J. (2015). Adverse effects of bisphenol A on water louse (*Asellus aquaticus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 117, 81-88.
13. Kang, J. H., Katayama, Y., & Kondo, F. (2006). Biodegradation or metabolism of bisphenol A: from microorganisms to mammals. *Toxicology*, 217(2-3), 81-90.
14. Maniradhan, M., & Calivarathan, L. (2023). Bisphenol a-induced endocrine dysfunction and its associated metabolic disorders. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, 23(4), 515-529.
15. Мусієнко, М. М., Паршикова, Т. В., & Славний, П. С. (2001). *Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин*. Київ: Фітосоціоцентр.
16. Pivonello, C., Muscogiuri, G., Nardone, A., Garifalos, F., Provisiero, D. P., Verde, N., ... & Pivonello, R. (2020). Bisphenol A: an emerging threat to female fertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 18, 1-33.

17. Dallio, M., Ventriglia, L., Romeo, M., Scognamiglio, F., Diano, N., Moggio, M., ... & Federico, A. (2023). Environmental bisphenol A exposure triggers trained immunity-related pathways in monocytes. *Frontiers in immunology*, 14, 1270391.
18. Meli, R., Monnolo, A., Annunziata, C., Pirozzi, C., & Ferrante, M. C. (2020). Oxidative stress and BPA toxicity: an antioxidant approach for male and female reproductive dysfunction. *Antioxidants*, 9(5), 405.
19. Le, V. G., Nguyen, M. K., Nguyen, H. L., Thai, V. A., Le, V. R., Vu, Q. M., ... & Nguyen, D. D. (2024). Ecotoxicological response of algae to contaminants in aquatic environments: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 1-21.
20. Adamovsky, O., Groh, K. J., Białk-Bielińska, A., Escher, B. I., Beaudouin, R., Lagares, L. M., ... & Kyriakopoulou, K. (2024). Exploring BPA alternatives—Environmental levels and toxicity review. *Environment International*, 108728.
21. Itoh, T., Koketsu, M., Yokota, N., Touho, S., Ando, M., & Tsukamasa, Y. (2014). Reduced scytonemin isolated from *Nostoc commune* suppresses LPS/IFN γ -induced NO production in murine macrophage RAW264 cells by inducing hemeoxygenase-1 expression via the Nrf2/ARE pathway. *Food and chemical toxicology*, 69, 330-338.
22. M'Rabet, C., Pringault, O., Zmerli-Triki, H., Gharbia, H. B., Couet, D., & Yahia, O. K. D. (2018). Impact of two plastic-derived chemicals, the Bisphenol A and the di-2-ethylhexyl phthalate, exposure on the marine toxic dinoflagellate *Alexandrium pacificum*. *Marine Pollution Bulletin*, 126, 241-249.
23. Андріюк Є. І. Ціанобактерії / Є. І. Андріюк, Ж. П. Коптєва, В. В. Заніна. (2007). *Наукова думка*. Київ: 325 с.
24. Jain, P., Pandey, R., & Inamdar, S. S. (2015). *Inflammation: Natural resources and its applications* (p. 156).

25. Potts, M. (1997). Etymology of the genus name Nostoc (Cyanobacteria). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47(2), 584-584.
26. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1-2), 265–268.
27. Afzal, G., Ahmad, H. I., Hussain, R., Jamal, A., Kiran, S., Hussain, T., ... & Nisa, M. U. (2022). Bisphenol A induces histopathological, hematobiochemical alterations, oxidative stress, and genotoxicity in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022(1), 5450421.
28. Pop, C. E., Draga, S., Măciucă, R., Niță, R., Crăciun, N., & Wolff, R. (2021). Bisphenol A effects in aqueous environment on *Lemna minor*. *Processes*, 9(9), 1512.
29. de Moraes Farias, J., & Krepsky, N. (2022). Bacterial degradation of bisphenol A and its analogues: An overview.
30. Багнюк, В. М., Ноженко, Л. С., & Закордонец, О. А. (2003). Літичні бактерії в активному мулі станції біохімічної очистки стічних вод. Київ: Мікробіологія.
31. Yang, M., Du, D., Zhu, F., & Wang, X. (2024). Metabolomic analysis reveals the toxicity mechanisms of bisphenol A on the *Microcystis aeruginosa* under different phosphorus levels. *Environmental Pollution*, 342, 123022.

Додаток А

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.

Додаток Б

Публікації за темою роботи