

УДК 582.282.23.017.7 + 579.222.7

*Гелена КШЕМІНСЬКА¹, Галина НЕЧАЙ^{1, 2}, Марія ІВАШ¹, Галина ГАЙДА¹,
Михайло ГОНЧАР^{1, 3}*

ПОЗАКЛІТИННА РЕДУКЦІЯ ХРОМАТУ ФЛАВІНОГЕННИМИ ТА КАРОТИНОСИНТЕЗУЮЧИМИ НЕКОНВЕНЦІЙНИМИ ДРІЖДЖАМИ

¹Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова, 14/16, 79005 Львів, Україна

²Інститут біології тварин УААН, вул. Стуса, 38, 79034 Львів, Україна

³Заміський факультет біотехнології, Жешувський університет,
вул. Соколовська 26, 36-100 Кольбушова, Польща gonchar@cellbiol.lviv.ua

*Наведено експериментальні дані з вивчення процесу редукції токсичного хромату дріжджовими культурами неконвенційних дріжджів *Pichia guilliermondii* та *Xanthophyllomyces dendrorhous* (*Phaffia rhodozyma*). Проаналізовано динаміку росту клітин у присутності хромату, позаклітинної редукції Cr(VI) та біохелатування Cr(III) органічними компонентами, які виділяють клітини дріжджів у культуральну рідину (КР). Розроблено деякі методичні підходи для концентрування та фракціонування Cr(III)-біокомплексів і характеристики їхніх складових.*

*Ключові слова: дріжджі, *Pichia guilliermondii*, *Xanthophyllomyces dendrorhous* (*Phaffia rhodozyma*), редукція хромату, Cr(III)-біокомплекси.*

Неконвенційні дріжджі – важливі модельні еукаріотичні мікроорганізми в дослідженні молекулярних механізмів життєвих процесів і водночас перспективні біотехнологічні об'єкти. На відміну від пекарських дріжджів, вони менш вивчені в генетичному та біохемічному аспекті, проте часто мають унікальні метаболічні властивості (здатність до засвоєння нетипових органічних субстратів і надсинтезу низки практично важливих біологічно активних сполук, наявність особливих ферментів, адаптація до багатьох токсичних сполук і здатність до їхньої детоксикації). Доступність методів класичного мутагенезу, генно-інженерних маніпуляцій, можливість модифікацій метаболічних шляхів клітин дріжджів дає змогу сконструювати нові штами дріжджів із модифікованими фізіолого-біохемічними характеристиками, цінними для мікробіологічного виробництва та інших галузей народного господарства.

Хром – важливий мікроелемент (у формі Cr^{III}) і водночас токсичний фактор довкілля (особливо у формі хроматів і дихроматів, де ступінь окислення хрому дорівнює +6). Тривалентний хром (у кількості 50–200 мкг на добу) потрібний для нормального розвитку людей і тварин завдяки участі в метаболізмі глюкози, хо-

лестеролу та жирів. Виділено так званий фактор толерантності до глюкози – біокомплекс хрому [1], дефіцит якого в організмі призводить до появи симптомів діабету і серцево-судинних порушень. Вважають, що ця субстанція модулює активність комплексу інсулін-інсуліновий рецептор, зокрема, в 7 разів активує кіназу інсулінового рецептора [2].

Екологічні проблеми стосовно хрому, здебільшого пов'язані з застосуванням хроматів, які можуть викликати рак та інші захворювання. Детальні механізми токсичної дії хромату досі не відомі, проте, без сумніву, вони пов'язані з високим редокс-потенціалом цього аніона, легкістю входження в клітини за посередництва високоафінних транспортерів сульфат-аніона та можливістю генерації в процесі клітинного відновлення Cr(VI) проміжних реакційноздатних сполук Cr(V).

Хромати/біхромати є основними сполуками хрому у валентному стані VI, які широко використовують у багатьох галузях промисловості. Завдяки високій токсичності і канцерогенності хромати дуже небезпечні для навколишнього середовища і здоров'я людини [3], тому актуальною проблемою є розробка ефективних методів детоксикації сполук хрому(VI) і біоремедіації промислових стоків. На відміну від сполук хрому з вищою валентністю, похідні Cr(III) не є такими токсичними [4], і завдяки їхній обмеженій розчинності та біосорбції легко усуваються хімічними та мікробіологічними методами. Досі залишається нерозв'язаною проблема усунення хроматів із середовищ довкілля або ж відновлення їх до Cr(III). Очевидно, що найпридатнішими для такої цілі можуть бути мікробні системи, проте сьогодні ще недостатньо досліджено генетичні та біохемічні аспекти метаболізму хромату. Відомо, що аніони хромату транспортуються у мікробні клітини сульфат-специфічними пермеазами і можуть відновлюватись до сполук Cr(III) клітинними редукуючими системами, які охоплюють ферментативні та неферментативні шляхи. Найпотужнішими неферментативними відновниками хроматів є аскорбінова кислота, глутатіон і цистеїн [5].

Відновлення хромату бактеріями достатньо вивчено [6]. Воно відбувається різними ферментативними шляхами і функціонує за аеробних [7] і анаеробних [8, 9] умов. Для еукаріотичних мікроорганізмів, насамперед дріжджів, дані про хромат-редуючі системи досить скупі і загалом невідомо, яка система – ферментативна чи неферментативна, внутрішньоклітинна чи позаклітинна відіграє головну роль у процесах детоксикації хромату.

У наших попередніх працях показано, що деякі дріжджі – пекарські та неконвенційні флавіногенні дріжджі *Pichia guilliermondii* - відіграють важливу роль у детоксикації хромату шляхом позаклітинної редукції: Cr(VI) → Cr(V) → Cr(III) із утворенням двох типів стабільних Cr(III)-біохелатованих комплексів [10, 11].

Обидві форми Cr(V) та Cr(III) було зареєстровано методом ЕПР-спектроскопії в культуральній рідині дріжджів *P. guilliermondii*, інкубованих у присутності 1 мМ хромату [12]. Нещодавно ми з'ясували, що неконвенційні каротиносинтезуючі дріжджі *Xanthophyllomyces dendrorhous* (*Phaffia rhodozyma*) також мають здатність редукувати хромат позаклітинно [13]. Мета нашої праці – вивчити процес редукції Cr(VI) дріжджовими культурами неконвенційних дріжджів зокрема, *P. rhodozyma*, які є перспективним джерелом каротиноїдів, а також можуть слугувати селен- та хром-вмісною кормовою добавкою (біодобавкою). Проаналізовано динаміку росту клітин, позаклітинної редукції хромату та біохелатування Cr(III) органічними компонентами, які виділяють клітини дріжджів у культуральну рідину (КР). Розробле-

но деякі методичні підходи для концентрування і фракціонування Cr(III)-біокомплексів та характеристики їх складових.

Матеріали та методи. Об'єктами дослідження слугували: штам «дикого» типу дріжджів *X. dendrorhous* (*P. rhodozyma*) NRRL Y-10921 і штам флавіногенних дріжджів *P. guilliermondii* ATCC (L2) з колекції мікроорганізмів Інституту біології клітини НАН України й отримані нами мутанти дріжджів *P. rhodozyma*, стійкі до селеніту натрію (штами *sit*) [14].

Дріжджі вирощували в колбах Ерленмейера на роторному шейкері при 250 об./хв, температурі 22 °С – для *P. rhodozyma* і 30 °С – для *P. guilliermondii* в середовищі такого складу (г/л): KH_2PO_4 – 1; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 2; $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; дріжджовий екстракт – 1 або 2; сахароза – 20; біотин – 1×10^{-6} .

В експериментах використовували клітини в експоненційній фазі росту (перша доба). До суспензії клітин з концентрацією 0,3 – 0,5 мг/мл додавали стерильний розчин хромату калію і проводили інкубацію за відповідних температур і аерації. Біомасу визначали за оптичною густиною клітинної суспензії при довжині хвилі 540 нм з наступним перерахунком на абсолютно суху біомасу клітин відповідно до калібрувального графіка.

Вміст залишкового хромату в культуральній рідині (КР) під час інкубації дріжджових клітин з хроматом визначали колориметрично дифенілкарбазидним методом [15].

Вміст доступного („вільного”) Cr(III) в КР визначали розробленим нами методом за використання хромазуролу S [10].

Для визначення вмісту загального хрому, поглинутого клітинами, та Cr(III), зв'язаного в позаклітинній рідині в міцні комплекси продуктами секреції клітин, аліквоти відмитих клітин або КР мінералізували за використання пергідролу в кислому середовищі. Після мінералізації концентрацію Cr(III) визначали із використанням хромазуролу S [16].

Для концентрування Cr(III)-комплексів, які утворювались в КР під час інкубації клітин дріжджів із хроматом, розроблено метод криоконцентрування: КР у циліндричній посудині з якомога більшим відношенням висоти до діаметра (подібно до хроматографічної колонки), заморожували при – 25 °С. Під час замерзання зелені зони, що містили Cr(III)-комплекси, концентрувались зверху та знизу посудини. Для отримання концентрованого матеріалу посудину фіксували у штативі при кімнатній температурі строго вертикально і збирали фракції в пробірки при поступовому розморожуванні. Фракції аналізували на вміст доступного та хелатованого хрому.

Фракціонування концентрованих Cr(III)-комплексів проводили за допомогою тонкошарової хроматографії (ТШХ) на пластині 200×200 мм Silufol UV 254 (Avantier, Чехія). Аліквоту 0,1 мл із найбільш концентрованої фракції наносили на нижню частину пластини, попередньо промитої водою, і проводили висхідну ТШХ у воді. Після закінчення хроматографії пластину висушували, різали по висоті на дев'ять рівних частин, сорбент із кожної смужки збирали та ділили на дві рівні порції. Одну порцію сорбенту з кожної смужки мінералізували та визначали в ній концентрацію хрому; другу порцію аналізували електрофоретично в поліакриламідному гелі (ПААГ).

Для електрофоретичного (ЕФ) аналізу біоматеріалу порцію силуфольного сорбенту поміщали в пластикову мініпробірку, додавали рівний об'єм 10 % розчину натрію додецилсульфату (SDS) в 20 мМ Тріс-НСІ буфері, рН 6,8, що містив дитіо-

трейтол (5 мМ). Суміш прогрівали 5 хв при 100 °С. ЕФ проводили за денатуруючих умов в 12,5 % ПААГ за Леммлі. Гелеві пластини фарбували Кумасі R-250.

Усі досліди повторювали тричі, а виміри – у 3-х паралелях.

Досліджували чутливість дріжджів *P. rhodozyma* до хромату порівняно з добре вивченими за цією ознакою дріжджами *P. guilliermondi* L2 [11]. На рис. 1 зображено кінетику росту дріжджів обох видів у присутності 0,6 мМ Cr(VI). Ростава поведінка обох культур подібна: клітини метаболізують хромат, і в міру його утилізації збільшується концентрація клітин. Однак у *P. rhodozyma* приріст біомаси спостерігали тільки після тривалої затримки. Лише на 3 добу, коли в культуральній рідині (КР) залишається третина хромату, починається інтенсивний ріст культури. У дріжджів *P. guilliermondi* L2 обидва процеси – метаболізм хромату та активний ріст – починаються практично на першу добу без лаг-періоду.

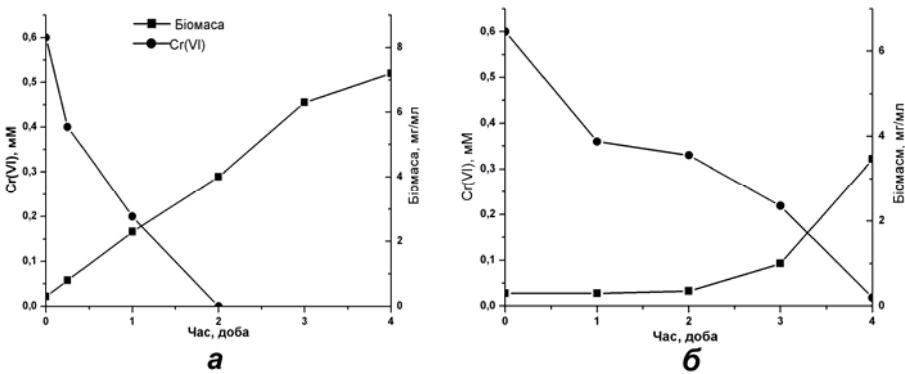


Рис. 1. Динаміка росту і вміст залишкового хромату в культуральній рідині при культивуванні дріжджів *P. guilliermondi* L2 (а) та *P. rhodozyma* NRRL Y-10921 (б) в сахарозному середовищі (2 %) у присутності 0,6 мМ хромату

Для вивчення механізмів біоредукції хромату клітинами дріжджів важливим інструментом можуть слугувати мутанти з модифікованою резистентністю/чутливістю до цього токсичного аніона. Щоб посилити редукційний детоксикаційний потенціал астаксантин-синтезуючих дріжджів, ми провели селекцію селеніт-резистентних мутантів *P. rhodozyma* [14]. Виділені спонтанні селеніт-резистентні мутанти протестували на стійкість до хромату і виявили різні ступені чутливості до цього структурного аналога селеніту. Два штами, відібрані для цієї роботи, суттєво відрізнялися за рівнем селенітної резистентності: *sit11* толерував 30 мМ селеніт, а *sit14* витримував лише 6 мМ рівень цього аніона в агаризованому середовищі. Згадані мутанти водночас виявляли протилежний фенотип щодо чутливості Cr(VI): *sit11* був чутливим, а *sit14* – стійким до хромату на твердих середовищах [13]. Отримані мутанти використали як моделі для дослідження особливостей біоасиміляції оксидантів металів, зокрема, для вивчення біохемічної природи хроматовідновних процесів і створення дріжджових клітинних систем, потенційно придатних для детоксикації хроматів/дихроматів у довкіллі, а також отримання Cr(III)-вмісних біокомплексів фармакологічного значення.

На рис. 2 показано результати дослідження хромат-детоксикаційної активності штамів із різною резистентністю до селеніту – *sit11* та *sit14*. Як видно з рис. 2, при

інкубації клітин дріжджів *P. rhodozyma* вихідного та мутантних штамів у рідких середовищах у присутності 0,2 мМ хромату виявлено обернену кореляцію ознак резистентності мутантів до хромату і селеніту: менш резистентний до селеніту мутант *sit14* ріс у присутності хромату на рівні вихідного штаму, тоді як більш резистентний до селеніту мутант *sit11* починав рости в середовищі в присутності хромату тільки після дводобового лаг-періоду, коли рівень залишкового Cr(VI) падав практично до нуля.

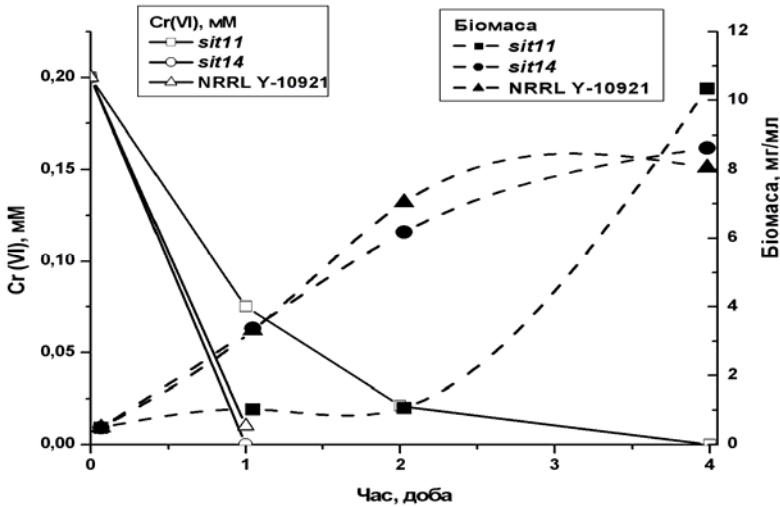


Рис. 2. Динаміка росту і позаклітинної редукції хромату дріжджами *P. rhodozyma* NRRL Y-10921 та їхніми мутантами *sit11*, *sit14* при інкубації з 0,2 мМ хромату

У попередніх дослідженнях ми з'ясували, що неконвенційні флавіногенні дріжджі *P. guilliermondii* [10, 11], а також каротиносинтезуючі дріжджі *P. Rhodozyma* володіють здатністю редукувати хромат позаклітинно, з утворенням стабільних Cr(III)-біокомплексів [13]. Тому ми поставили за мету дослідити різні форми продуктів метаболізму хромату в КР обох *sit*-мутантів *P. rhodozyma* та здатність клітин до акумуляції хрому (див. рис. 3, табл.).

Заслугове уваги факт, що клітини дріжджів *P. rhodozyma*, а особливо чутливий до хромату мутант *sit11*, поглинають у 2–8 разів більше хрому порівняно з дріжджами *P. guilliermondii* L2 (табл.). Можливо, ця ознака якоюсь мірою зумовлює підвищену чутливість до хромату мутанта *sit11*. При нижчій (0,2 мМ) концентрації хромату (дані не наведено) профілі вмісту проміжних продуктів метаболізму – вільного та хелатованого Cr(III) – відрізнялися незначно у досліджених штамів. Як видно з рис. 3 та табл., при інкубації в присутності 0,9 мМ хромату в КР мутанта *P. rhodozyma* залишалось утричі більше Cr(VI) та вільної форми Cr(III), а хелатованої форми хрому (як різниці між вмістом хрому після мінералізації та сумою вільних форм Cr) утворювалось значно менше порівняно з дослідом за використання 0,2 мМ хромату.

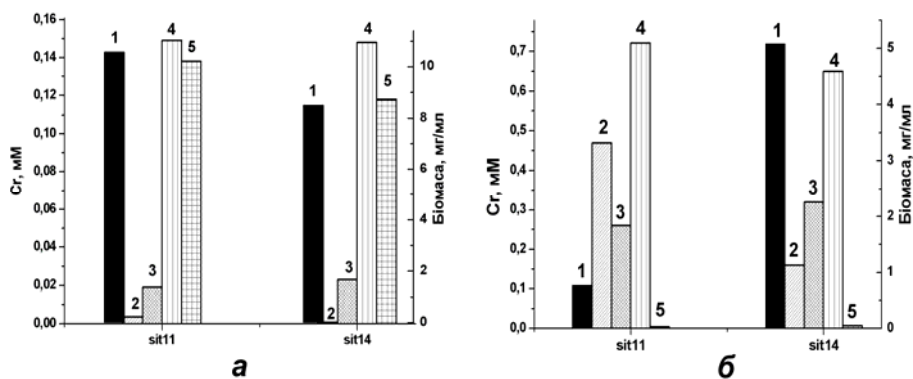


Рис 3. Співвідношення різних форм хрому, виявлених у КР, після інкубації селеніт-резистентних мутантів дріжджів *P. rhodozyma* sit11 і sit14 (0,3 мг/мл) з різними концентраціями хромоту: 0,2 мМ, протягом 4 діб (а) та 0,9 мМ, протягом 5 діб (б). 1 – біомаса, мг/мл; 2 – залишковий Cr(VI), мМ; 3 – вільний Cr(III), мМ; 4 – Cr після мінералізації КР, мМ; 5 – хелатований Cr, мМ.

Таблиця

Баланс різних форм хрому, виявлених у КР і клітинах після 5-добової інкубації дріжджів *P. rhodozyma* та *P. guillermondii* L2 у присутності хромоту (0,9 мМ та 1 мМ, відповідно).

Дріжджі	Біомаса, мг/мл	Хром, визначений після мінералізації			**Сумарний хром	
		в КР, мМ	у клітинах		мМ	% від вихідного
			мкмоль /мг	*мМ		
<i>P. rhodozyma</i> NRRL Y-10921	3,00	0,708	0,050	0,150	0,858	95
<i>P. rhodozyma</i> sit11	0,75	0,721	0,112	0,084	0,805	89
<i>P. rhodozyma</i> sit14	5,00	0,650	0,033	0,165	0,815	91
<i>P. guillermondii</i> L2	6,94	0,890	0,014	0,097	0,987	99

*Із врахуванням концентрації клітин (мг/мл).

**Сумарний хром у культурі – сума вмісту хрому, визначеного після мінералізації КР і клітин.

Для детального дослідження Cr(III)-біохелатів ми розробили простий метод їхнього концентрування – шляхом заморожування та розморожування. На рис. 4 показано дані по балансу хрому, визначеного мінералізацією у фракціях, отриманих при повільному розморожуванні Cr(III)-біохелатів.

Як видно з рис. 4, запропонований спосіб дає змогу концентрувати біоматеріал принаймні в 5 разів – для малих об'ємів вихідного розчину, а при концентруванні значно більших об'ємів Cr(III)-біохелатів в КР можна досягти на порядок вищого концентрування – до 50 разів.

Аналіз фракцій Cr(III)-комплексів, одержаних методом кріоконцентрування, проводили за допомогою ТШХ. На рис. 5 показано профіль розподілу вмісту хрому вздовж силуфольної пластини при розділенні Cr(III)-комплексів *P. rhodozyma* sit14.

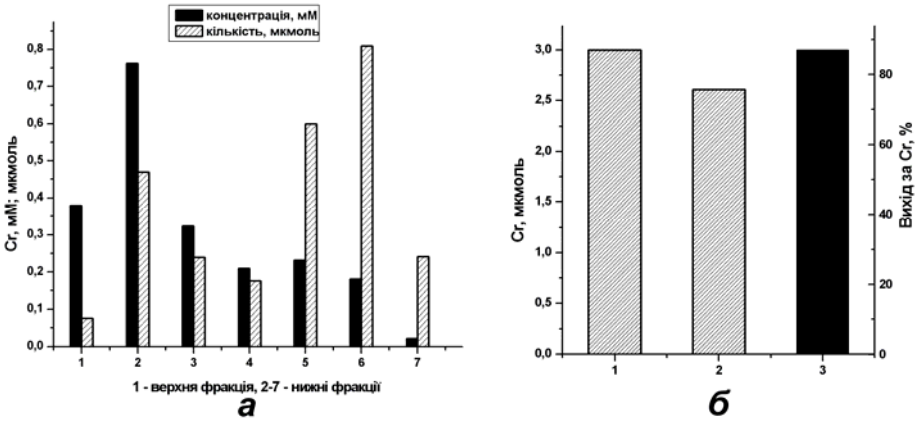


Рис. 4. Кріоконцентрація Cr(III)-біохелатів культуральної рідини (20 мл), отриманої при інкубації *P. rhodozyma* sit14 з 0,2 мМ хроматом протягом 4 діб: а – розподіл Cr у фракціях (1–7) при поступовому розморожуванні КР; б – баланс сумарного вмісту Cr, визначеного після мінералізації фракцій КР: 1 – хром у вихідній КР, мкмоль; 2 – хром, виявлений у фракціях 1–7, мкмоль; 3 – вихід хрому в процесі кріоконцентрації, %.

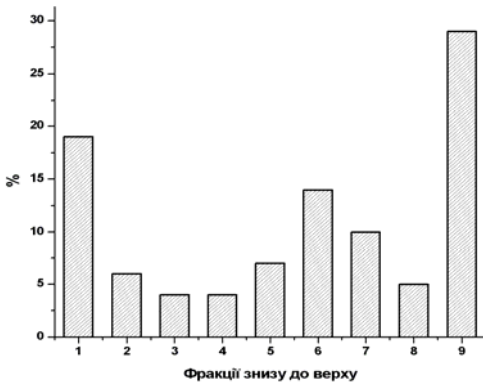


Рис. 5. Розподіл Cr (%) у мінералізованих ділянках силуфольної пластинки після ТШХ кріоконцентрату, одержаного з КР дріжджів *P. rhodozyma*, які зредукували 0,2 мМ хромату.

Варто зазначити, що зображений на рис. 5 профіль розподілу хрому на пластинках після ТШХ зразків Cr(III)-біохелатів має однакову форму для обох видів неконвенційних дріжджів – *P. rhodozyma* та *P. guilliermondii*. Це дає підставу припустити, що хімічна природа складників Cr(III)-біокомплексів, продукованих цими дріжджами, подібна.

На рис. 6 показано електрофореграму Cr(III)-комплексів *P. guilliermondii* – екстрактів з певних ділянок силуфольної пластинки. Результати електрофоретичного аналізу свідчать про білкову природу компонентів деяких біокомплексів.

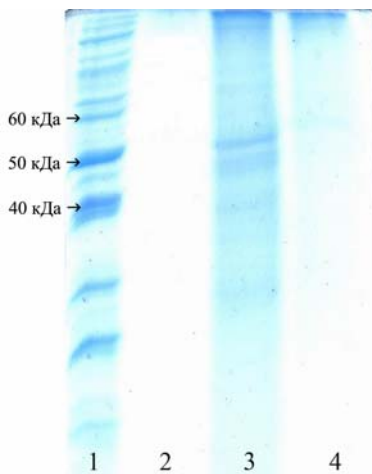


Рис. 6. Електрофореграма екстрактів окремих смужок силуфольної пластини: 1 – маркери молекулярної ваги; 2 – контрольна ділянка; 3 – ділянка, що відповідає фракції 6 (див. рис. 5); 4 – ділянка, що відповідає фракції 9 (див. рис. 5).

Отож, наші дослідження показали, що неконвенційні дріжджі *P. rhodozyma* та одержані спонтанні мутанти з різною чутливістю до селеніту мають чітко виражену нижчу толерантність до хромату порівняно з дріжджами *P. guilliermondii* L2. Виявлена негативна кореляція у фенотипах резистентності до селеніту і хромату у мутанта *sit11 P. rhodozyma* може свідчити про різні шляхи редукції цих аніонів. Суттєвим фактором, що визначає різну толерантність дріжджів до хромату, може бути відмінність у здатності клітин до біоаккумуляції хрому.

Дріжджі *P. rhodozyma*, особливо хромат-чутливий мутант *sit11*, нагромаджує в клітинах майже на порядок більше хрому, ніж *P. guilliermondii* L2. Здатність дріжджів *P. rhodozyma* та *P. guilliermondii* до хелатування продукту редукції хромату – Cr(III) – в біокомплекси, нетоксичні для клітин, є однією з передумов їхньої толерантності до хромату. Фракціонування біокомплексів обох видів дріжджів методом тонкошарової хроматографії засвідчило їхню подібність за складом.

ЛІТЕРАТУРА

1. Schwartz K., Mertz W. A glucose tolerance factor and its differentiation from factor 3 // Arch. Biochem. Biophys. – 1957. – Vol. 72. – P. 515–518.
2. Vincent J.B. Mechanisms of chromium actions: low-molecular-weight chromium-binding substance // J. Amer. Coll. Nutr. – 1999. – Vol. 18. – P. 6–12.
3. Levina A., Codd R., Dillon C. T., Lay P. A. Chromium in biology: nutritional aspects and toxicology // Prog. Inorg. Chem. – 2003. – Vol. 51, № 2. – P. 145–250.
4. Dua M., Singh A., Sethunathan N., Johri A.K. Biotechnology and bioremediation: successes and limitations // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2002. – Vol. 59, № 2–3. – P.143–152.

5. *Rai L.C., Raizada M.* Impact of chromium and lead on *Nostoc muscorum*: regulation of toxicity by ascorbic acid, glutathione, and sulfur-containing amino acids // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* – 1988. – Vol. 15, № 2. – P. 195–205.
6. *Wang P. C., Mori T., Toda K., Ohtake H.* Membrane-associated chromate reductase activity from *Enterobacter cloacae* // *J. Bacteriol.* – 1990. – Vol. 172. – P. 1670–1672.
7. *Suzuki, T., N. Miyata, H. Horitsu, K. Kawai, K. Takamizawa, Y. Tai, and M. Okazaki* NAD(P)H-dependent chromium(VI) reductase of *Pseudomonas ambigua* G-1: a Cr(V) intermediate is formed during the reduction of Cr(VI) to Cr(III) // *J. Bacteriol.* – 1992. – Vol. 174. – P. 5340–5345.
8. *Ishibashi Y., Cervantes C. & Silver S.* Chromium reduction in *Pseudomonas putida* // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1990. – Vol. 56. – P. 2268–2270.
9. *Wang P. C., Mori T., Komori K., Sasatsu M., Toda K., Ohtake H.* Isolation and characterization of an *Enterobacter cloacae* strain that reduces hexavalent chromium under anaerobic conditions // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1989. – Vol. 55. – P. 1665–1669.
10. *Ksheminska H. P., Honchar T. M., Gayda G. Z., Gonchar M. V.* Extra-cellular chromate-reducing activity of the yeast cultures // *Cent. Eur. J. Biol.* – 2006. – 1, N 1. – P. 137–149.
11. *Ksheminska H., Fedorovich D., Honchar T., Ivash M., Gonchar M.* Yeast tolerance to chromium depends on extra-cellular chromate reduction and Cr(III)-chelation // *Food Technol. Biotechnol.* – 2008. – Vol. 46, N 4. – P. 420–427.
12. *Ksheminska H., Honchar T., Usatenko Yu., Gonchar M.* Extra-cellular chromate-reducing activity of the yeast cultures // *Mat. of 2-nd Polish-Ukr. Weigl Conf. “Microbiology in the XXI century”* (24–26 Sept. 2007, Warsaw). – Warsaw, 2007. – P. 240.
13. *Ksheminska H., Gayda G., Prokopiv T., Ivash M., Usatenko Yu., Gonchar M.* Extra-cellular reduction in chromate detoxification by baker’s and non-conventional yeasts: study of the mechanisms of stable Cr(III)-biochelates formation and its characteristics // *Mat. of 12-th International congress on yeasts.* (August 11–15, 2008, Kyiv). – Kyiv, 2008. – P. 197.
14. *Нечай Г.* Отримання спонтанних мутантів каротинсинтезуючих дріжджів *Phaffia rhodozyma*, стійких до селеніту натрію // *Матер. II міжнародної конференції молодих учених “Біологія: від молекули до біосфери”* (19–21 Лист. 2007 р., Харків). – Харків, 2007. – P. 386.
15. *Greenderg A. E., Connors J. J., Jenkins D., Franson M. A.* Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater // *American Public Health Association, Washington, USA.* – 1981. – P. 187–190.
16. *Honchar T. M., Ksheminska H. P., Patsay I. O., Huta O. M., Gonchar M. V.* Assay of chromium(III) in microbial cultures using Chromazurol S and surfactants // *Biotechnology. Kiev.* – 2008. – Vol. 1, N 4. – P. 64–67.

SUMMARY

Helena KSHEMINSKA¹, Galyna NECHAY², Maria IVASH¹, Galyna GAYDA¹,
Mykhailo GONCHAR*^{1,3}

EXTRA-CELLULAR REDUCTION OF CHROMATE BY FLAVINOGENIC AND CAROTENE-SYNTHEZIZED NON-CONVENTIONAL YEASTS

¹*Institute of Cell Biology, NAS of Ukraine, Drahomanov Street 14/16, 79005 Lviv, Ukraine*

²*Institute of Animal Biology, Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Stus Street 38, Lviv, Ukraine*

³*Branch Campus of the Faculty of Biotechnology, Rzeszow University, Sokolowska Street 26, 36-100 Kolbuszowa, Poland, gonchar@cellbiol.lviv.ua*

The experimental data concerning the study of chromate reduction by non-conventional yeasts *Pichia guilliermondii* та *Xanthophyllomyces dendrorhous* (*Phaffia rhodozyma*) have been represented. The dynamics of cells growth in the presence of chromate, extra-cellular chromate reduction and Cr(III)-chelation by organic components, secreted by yeast cells, were analyzed. Some approaches for concentration, fractionation and characterization of Cr(III)-biocomplexes have been developed.

Keywords: yeasts, *Pichia guilliermondii*, *Xanthophyllomyces dendrorhous* (*Phaffia rhodozyma*), chromate reduction, Cr(III)-biocomplexes