2024

НАУКОВІ ПРАЦІ
НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Том 30 № 6

Журнал
«Наукові праці Національного університету харчових технологій»
видається з 1938 року

КИЇВ ✧ НУХТ ✧ 2024

UDC 663/664
Media ID R30-02089

Articles with the results of fundamental theoretical developments and applied research in the field of technical and economic sciences are published in this journal. The scripts of articles are reviewed beforehand by leading specialists of corresponding branch.

The journal was designed for professors, tutors, scientists, post-graduates, students of higher education establishments and executives of the food industry.

Journal "Scientific Works of National University of Food Technologies" is included into the list of professional editions of Ukraine of technical (specialties — 121, 126, 133, 141, 144, 151, 162, 181) and economic sciences (specialties — 051, 073, 075), category "B" (Decree of MES of Ukraine #975 from July11, 2019), where the results of dissertations for scientific degrees of PhD and candidate of science can be published.

The Journal "Scientific Works of National University of Food Technologies" is indexed by the following scientometric databases:

- Index Copernicus
- EBSCOhost
- Google Scholar

The Journal is recommended for publication of research results by the Ministry of Science and Higher Education of Poland.

Editorial office address:

National University of
Food Technologies
Volodymyrska str., 68,
building Б, room 412
01601 Kyiv, Ukraine

Recommended for publication by the Academic Council of the National University of Food Technologies. Protocol No. 6 from 19th of December, 2024

© NUFT, 2024

УДК 663/664
Ідентифікатор медіа R30-02089

У журналі публікуються статті за результатами фундаментальних теоретичних розробок і прикладних досліджень у галузі технічних та економічних наук. Рукописи статей попередньо рецензуються провідними спеціалістами відповідної галузі.

Для викладачів, наукових працівників, аспірантів, докторантів і студентів вищих навчальних закладів, керівників підприємств харчової промисловості.

Журнал «Наукові праці Національного університету харчових технологій» включено в перелік наукових фахових видань України з технічних (спеціальності — 121, 126, 133, 141, 144, 151, 162, 181) та економічних наук (спеціальності — 051, 073, 075), категорія «Б» (Наказ МОН України № 975 від 11.07.2019), в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук.

Журнал «Наукові праці Національного університету харчових технологій» індексується такими наукометричними базами:

- Index Copernicus
- EBSCOhost
- Google Scholar

Журнал рекомендовано Міністерством науки і вищої освіти Польщі для публікації результатів наукових досліджень.

Адреса редакції:

Національний університет
харчових технологій
вул. Володимирська, 68,
корпус Б, к. 412,
м. Київ, 01601

Рекомендовано вченою радою Національного університету харчових технологій. Протокол № 6 від 19 грудня 2024 року

© НУХТ, 2024

УДК 606:612.3:664.6

THE INFLUENCE OF CULTIVATION CONDITIONS ON IRON ACCUMULATION IN SACCHAROMYCES YEASTS AND PROSPECTS OF THEIR APPLICATION

H. Bondar, V. Krasinko
National University of Food Technologies

Key words:
Yeast
Iron
Cultivation
Dietary supplements
Anemia

Article history:
Received 13.11.2024
Received in revised form 27.11.2024
Accepted 10.0122024

Corresponding author:
H. Bondar
E-mail:
abn2292@gmail.com

Citation: Бондар Г. М., Красінько В. О. (2024). Вплив умов культивування на накопичення заліза в дріжджах роду *Saccharomyces* і перспективи їх використання. *Наукові праці НУХТ*, 30(6), 18—38.
DOI: 10.24263/2225-2924-2024-30-6-4

ABSTRACT

Research on yeast enrichment with iron has become not only a scientific challenge but also a societal necessity because of the growing problem of iron-deficiency anemia. Although iron is widely available, it is poorly absorbed by the body. However, when yeast is enriched with iron, this microelement is converted into an organic form with high bioavailability, making it easier to absorb than inorganic iron compounds.

Optimizing yeast cultivation conditions to improve iron accumulation efficiency is important, as growth conditions significantly impact the yeast cell composition and their ability to absorb and retain metals. The metal absorption process in yeast cells depends on the type of metal ions, the state of the yeast cells, the composition of the nutrient medium, and cultivation conditions such as pH, temperature, aeration, and the presence of other ions in the solution.

Research on yeast iron enrichment has a wide range of directions. A key focus is identifying the optimal source of iron to ensure maximum accumulation of this microelement in yeast cells. Concurrently, significant attention is given to the genetic modification of yeast to create strains with enhanced iron-accumulation capabilities.

An essential aspect of research is studying the effects of iron-enriched yeast on living organisms. Specifically, animal studies were conducted to assess the effectiveness of such yeast in correcting iron-deficiency conditions. Scientists analyze changes in blood parameters, such as hemoglobin and ferritin levels, as well as the overall health of animals that have consumed iron-enriched yeast.

Moreover, the impact of iron-enriched yeast on the sensory and technological properties of food products containing it was also investigated. This is because excessive iron accumulation may alter the color, taste, and other characteristics of food products.

The findings have broad potential applications in the food industry, pharmaceuticals, and agriculture.

DOI: 10.24263/2225-2924-2024-30-6-4

ВПЛИВ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ НА НАКОПИЧЕННЯ ЗАЛІЗА В ДРІЖДЖАХ РОДУ *SACCHAROMYCES* І ПЕРСПЕКТИВИ ЇХ ВИКОРИСТАННЯ

Г. М. Бондар, В. О. Красінько
Національний університет харчових технологій

У світлі зростаючої проблеми залізодефіцитної анемії дослідження збагачення дріжджів залізом стає не лише науковим викликом, а й суспільною необхідністю. Хоча залізо широко розповсюджене в природі, воно погано засвоюється організмом. Проте при збагаченні дріжджів залізом цей мікроелемент перетворюється в органічну форму, яка має високу біодоступність і легше засвоюється, ніж неорганічні сполуки заліза.

Оптимізація умов культивування дріжджів з метою підвищення ефективності накопичення заліза є актуальним напрямком досліджень, оскільки умови росту суттєво впливають на склад клітин дріжджів і їх здатність поглинати та накопичувати метали. Процес поглинання металу клітинами дріжджів є складним і залежить від типу іонів металу, стану клітин дріжджів, складу поживного середовища, а також умов культивування, таких як pH, температура, аерація та наявність інших іонів у розчині.

Дослідження в галузі збагачення дріжджів залізом охоплюють широкий спектр напрямів. Одним з ключових є пошук оптимального джерела заліза, яке б забезпечувало максимальне накопичення цього мікроелемента дріжджовими клітинами. Паралельно з цим, велика увага приділяється генетичним модифікаціям дріжджів. Метою таких модифікацій є створення штамів з підвищеною здатністю до накопичення заліза.

Важливим аспектом досліджень є вивчення впливу дріжджів, збагачених залізом, на живий організм. Зокрема, проводяться дослідження на тваринах з метою оцінки ефективності таких дріжджів у корекції залізодефіцитних станів. Науковці аналізують зміни показників крові, таких як рівень гемоглобіну та феритину, а також загальний стан здоров'я тварин, які отримували дріжджі, збагачені залізом.

Крім того, досліджується вплив збагачення дріжджів залізом на органолептичні й технологічні властивості харчових продуктів, до складу яких вони входять. Це пов'язано з тим, що надмірне накопичення заліза може призвести до зміни кольору, смаку та інших характеристик продуктів.

Дослідження в галузі збагачення дріжджів залізом є багатогранними і спрямованими на розробку ефективних та безпечних способів боротьби з залізодефіцитними станами. Отримані результати можуть знайти широке застосування в харчовій промисловості, фармацевтиці та сільському господарстві.

Ключові слова: *дріжджі, залізо, культивування, дієтичні добавки, анемія.*

Постановка проблеми. Залізо — мікроелемент, за участю якого в організмі ссавців відбуваються найбільш важливі біологічні процеси: дихальна діяльність (транспорт і зберігання кисню гемом), синтез ферментів, ДНК, реплікації клітин,

енергетичний обмін, в якому іон заліза виступає кофактором для гемових та залізо-сірчаних білків, необхідних для функціонування мітохондрій (Correnti, Gammella, Cairo, & Recalcati, 2024). Біодоступність заліза в організмі людини є низькою, особливо якщо в дієті переважають продукти рослинного походження, що містять залізо у формі неорганічного негемового заліза, яке засвоюється організмом гірше, ніж гемове залізо з продуктів тваринного погодження (м'ясо, риба, птиця) (Dutt, Hamza, & Bartnikas, 2022). Низький вміст цього мікроелемента в організмі може бути зумовлений поганим всмоктуванням з харчових продуктів, здебільшого через взаємодію з харчовими компонентами (фітатами, поліфенолами, кальцієм), зниженою біодоступністю заліза у харчових продуктах промислового виробництва (Piskin, Cianciosi, Gulec, Tomas, & Capanoglu, 2022), порушенням регуляції транспорту, метаболізму та резорбції заліза в організмі, крововтратами, запаленнями (Roemhild та ін., 2021).

Складність засвоєння заліза в організмі та велика кількість факторів, що впливає на цей процес, призводить до того, що дефіцит заліза є одним найпоширеніших видів харчової недостатності у світі. Залізодефіцитні стани вважаються глобальною проблемою громадського здоров'я, особливо серед дітей і жінок дітородного віку, і можуть супроводжуватися розвитком залізодефіцитної анемії, зниженням продуктивності праці, імунітету, впливом на когнітивний розвиток (Yang, Li, Feng, & Zeng, 2023). У 2019 р. глобальна поширеність анемії становила 29,9% серед жінок репродуктивного віку та 39,8% серед дітей віком 6—59 місяців (WHO, електронний ресурс). Станом на 2021 р. за оцінкою Міжнародного дослідження тягаря хвороб (Global Burden of Disease, GBD) загальна кількість випадків анемії у світі — 1,92 млрд (GBD, 2021). Проблема дефіциту заліза набуває особливої актуальності і в Україні, особливо в умовах війни. Військові, які тривалий час перебувають в умовах підвищеного стресу, обмеженого доступу до збалансованого харчування та постійного ризику травм, є вразливою групою щодо розвитку залізодефіцитних станів. Постійні фізичні навантаження, стрес і нерегулярне харчування можуть призводити до виснаження запасів заліза в організмі. Це, у свою чергу, є причиною зниження фізичної витривалості, погіршення когнітивних функцій, підвищення ризику інфекцій і зниження боєздатності.

Враховуючи, що дефіцит заліза і, як наслідок, анемія є однією з найпоширеніших проблем зі здоров'ям у світі, особливо серед вразливих груп населення, і має значний вплив на економічний розвиток країн, ВООЗ поставила за мету знизити поширеність анемії вдвічі до 2030 р. (WHO, електронний ресурс).

Серед найбільш поширених способів подолання залізодефіциту можна виділити: пероральний прийом лікарських засобів, дієтичних добавок і вживання продуктів, збагачених залізом (Man та ін., 2022). Проте застосування лікарських засобів і дієтичних добавок із залізом часто викликає побічні реакції, а безпосереднє додавання заліза до харчових продуктів може негативно впливати на їх органолептичні властивості. Це зумовлює пошук нових технологій і способів введення заліза до харчових продуктів для підвищення його біодоступності зі збереженням органолептичних властивостей і мінімізацією побічних реакцій.

Сучасні наукові дослідження приділяють дедалі більше уваги використанню в харчуванні дріжджів, збагачених залізом. Дріжджова біомаса відома як природне джерело білка, амінокислот, вуглеводів і вітамінів групи В (Jach, Serefko, Ziaja, &

Kieliszek, 2022). Зокрема, дріжджі, збагачені залізом, вирізняються високою засвоюваністю, низькою подразнювальною дією та багатим вмістом поживних речовин. У процесі розмноження дріжджів неорганічне залізо перетворюється на органічну форму, що підвищує його біодоступність для організму (Chen та ін., 2024).

Здатність дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* накопичувати різні метали (зокрема і залізо) відкриває широкі перспективи для їх застосування у виробництві харчових продуктів і дієтичних добавок. Збагачення дріжджів металом здійснюється шляхом додавання їх солей у середовище для культивування. Однак поглинання металів дріжджовими клітинами — це складний процес, що залежить від типу іонів металу, видоспецифічності дріжджів, фізіологічного стану клітин, а також фізико-хімічних умов культивування та експериментальних факторів, як-от pH, температура й наявність інших іонів і розчинених органічних сполук у середовищі (Machado, Soares, & Soares, 2010). Умови росту дріжджів можуть істотно вплинути на склад їх клітин і їхню здатність зв'язувати метали, присутні в поживному середовищі.

Зважаючи на викладене вище, виникає актуальна потреба у розробці ефективних технологій для культивування дріжджів роду *Saccharomyces* з метою отримання біомаси, збагаченої біодоступним залізом. Це дасть змогу створити нові функціональні продукти харчування, які допоможуть вирішити проблему дефіциту заліза у вразливих груп населення.

Метою огляду є аналіз наукових публікацій щодо впливу умов культивування та різних джерел заліза на накопичення заліза дріжджами роду *Saccharomyces*, аналітичних методів для кількісної оцінки поглинутого заліза та перспектив практичного застосування збагачених дріжджів роду *Saccharomyces* у харчових продуктах ті дієтичних добавках.

Матеріали і методи. У ході проведення літературного огляду застосовані методи аналізу та синтезу, пошуку інформації та її обробки.

Викладення основних результатів дослідження.

1. Вплив умов культивування на поглинання металів дріжджами роду Saccharomyces. Ключову роль у процесі поглинання металів дріжджами відіграє їх клітинна стінка. Процес біосорбції металів клітинами дріжджів складається з двох етапів: пасивної біосорбції та активної біосорбції (біоакумуляції). Пасивна біосорбція характеризується тим, що іони металів адсорбуються на поверхні клітин за рахунок взаємодії з негативно зарядженими поверхневими функціональними групами, такими як карбоксильна, фосфатна, гідроксильна, аміногрупа, сульфідна та інші (Fadel та ін., 2017; Huang та ін., 2020). Пасивна біосорбція є динамічною рівновагою оборотної адсорбції та десорбції іонів металів (Siddique та ін., 2015), що не залежить від метаболізму і відбувається швидко за кілька хвилин, використовуючи різні механізми зв'язування металу, наприклад, іонний обмін, комплексоутворення, фізичну адсорбцію, осадження або кристалізацію (Bahafid та ін., 2017). Зв'язок металів з дріжджами є нековалентним і залежить від структури клітинної стінки дріжджів і типу металу (Salavatifar, & Khosravi-Darani, 2024).

Перша стадія біоакумуляції полягає в процесі біосорбції, тобто зв'язуванні іонів металів з функціональними групами на поверхні клітини, обміні іонів, комплексоутворенні та осадженні. Друга стадія, транспорт металів через клітинну мембрану, залежить від метаболізму клітин, пов'язаного з активною захисною систе-

мою мікроорганізмів (Hansda, Kumar, & Anshumali, 2016). У дослідженні біосорбції іонів Cr^{6+} та Fe^{3+} клітинами *Streptococcus equisimilis*, *Saccharomyces cerevisiae* та *Aspergillus niger* було підтверджено, що поглинання іонів металів мікроорганізмами відбувається у два етапи: швидке пасивне поглинання і повільне активне поглинання. Перший етап вважається фізичною адсорбцією, тобто обміном іонів на поверхні клітин, рівновага в кінці швидкої фізичної адсорбції досягається протягом 30—40 хв (Goyal, 2003; Ferraz, 2004; De Rossi, 2018).

Результати численних наукових праць демонструють, що біосорбційна здатність дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* залежить від комплексу взаємопов'язаних факторів. Це стан клітин (вік, життєздатність), властивості іонів металів у водному середовищі (радіус іонів, валентність), умови культивування (склад поживного середовища, джерела вуглецю, азоту) та умови самого процесу біосорбції (pH, температура, час контакту, вихідна концентрація металів, тощо).

Значення pH. Значення pH середовища не лише суттєво впливає на дисоціацію іонів (сполук) на поверхні клітин, але й на хімічні процеси в розчинах металів: гідроліз, утворення комплексів з органічними та/або неорганічними лігандами, окисно-відновні реакції, осадження, на доступність поверхні для біосорбції металів.

Проводилося дослідження ефективності дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* щодо видалення важких металів з водних розчинів. Вивчено вплив pH на біосорбційну здатність. Результати експерименту показали, що поглинання металу відбувалося швидко при значеннях pH 5,0—6,0, а порядок накопичених іонів металу становив Pb>Zn>Cr>Co>Cd>Cu. При значенні pH менше 2,0 спостерігалось зменшення здатності дріжджів поглинати метали. Це пов'язано з конкуренцією іонів водню (H^+) з іонами металів за активні центри на поверхні клітини. Отже, при низьких значеннях pH (менше 2,0) біосорбція практично припиняється, дослідники це пояснили протонуванням функціональних груп на поверхні клітин дріжджів, що призвело до втрати поверхневого негативного заряду і, відповідно, зменшення здатності зв'язувати позитивно заряджені іони металів (Farhan, & Khadom, 2015).

Результати експериментів щодо вивчення впливу pH розчину на процес біосорбції дріжджами *Saccharomyces cerevisiae* іонів Cr^{6+} з водного розчину з концентрацією металу 50 мг/л, показали, що найвища ефективність біосорбції спостерігалася при pH 3, і становила 77,84%. Це може бути пояснено тим, що при pH 3 клітинна стінка *Saccharomyces cerevisiae* була активною та негативно зарядженою, внаслідок цього відбувалась адсорбція позитивно заряджених іонів Cr^{6+} і зменшення концентрації іонів. Тоді як при pH 7 ефективність біосорбції Cr^{6+} становила лише 16,78%, оскільки через нейтральний pH 7 починався процес осадження іонів Cr^{6+}, а клітинні стінки *Saccharomyces cerevisiae* більше не могли оптимально зв'язувати важкі метали (Ibrahim, Djide, & Lapik, 2020).

У дослідженні впливу pH на накопичення заліза дріжджами *Saccharomyces cerevisiae* найбільший приріст біомаси спостерігався в діапазоні pH від 4,0 до 7,0; значення pH також впливало на вміст заліза, максимальна концентрація акумулювання відбувалася при pH 6,0 (Wang, Zhang, Su, Guan, & Ji, 2011).

Екстремальні значення pH, зазвичай, знижують швидкість і ступінь поглинання металу. Біосорбційна здатність катіонів металів зростає разом із підвищенням

рівня pH у сорбційній системі, і ця залежність не є лінійною. При високих значеннях pH (більше 10) може відбуватись осадження комплексів, гідроксидів металів через збільшення кількості іонів OH^-, тому важливо уникати його в експериментальних умовах (Jena, 2022; Kulkarni, 2019).

Отже, pH в межах від 3,5 до 8,0 вважається оптимальним для поглинання металу (Brady, & Duncan, 1994a; Fourest, & Roux, 1992; Sieber, 2024) майже для всіх типів біомаси.

Температура. Температура обмежено впливає на біосорбцію іонів металів у певному діапазоні, що вказує на те, що певною мірою в біосорбції існує іонообмінний механізм. Процес біосорбції, зазвичай, не проводять при високих температурах, оскільки це збільшує експлуатаційні витрати.

Реакції адсорбції є екзотермічними, тому здатність до біосорбції зростає зі зниженням температури. В діапазоні 15—40 °C максимальна рівноважна біосорбційна ємність для іонів Pb^{2+}, Ni^{2+} та Cr^{6+} *S. cerevisiae* досягалася при температурі 25 °C. Зменшення ємності при вищій температурі показало, що процеси біосорбції цих іонів металів на поверхні клітин *S. cerevisiae* є екзотермічними і можуть бути наслідком пошкодження активних центрів зв'язування в біомасі (Özer, & Özer, 2003).

Дослідження впливу різних температур 10 °C, 23 °C та 40 °C на ефективність біосорбції Co^{2+}, Zn^{2+} та Cu^{2+} з водних середовищ на поверхні клітин *Saccharomyces cerevisiae* продемонструвало, що підвищення температури викликало зниження біосорбційної здатності *Saccharomyces cerevisiae* у всіх випадках. Крім того, це зниження набагато більш очевидне у випадку іонів Zn^{2+}, ніж у випадку іонів Cu^{2+} і Co^{2+}. Оптимальною температурою для сорбції іонів металів було визначено значення 23 °C (Savastru, Bulgariu, Zamfir, & Bulgariu, 2022).

З точки зору загального вмісту заліза оптимальною температурою культивування *S. cerevisiae* була обрана температура 30 °C (Wang, Zhang, Su, Guan, & Ji, 2011).

Конкуруючі іони/коіони. Зазвичай біосорбційна здатність одного іона металу може знизитись за наявності в розчині коіонів, включаючи іони й аніони інших металів, однак загальна здатність до поглинання всіх металів у розчинах залишається майже незмінною.

Наприклад, було виявлено, що здатність *S. cerevisiae* сорбувати іони Cr^{6+} значно знижувалась впродовж 24 год через наявність іонів Fe^{3+}, тоді як ця ж концентрація Fe^{3+} майже не впливала на поглинання Cr^{6+} дріжджами *S. equisimilis* та міцеліальною масою *A. niger* (Goyal та ін., 2003). Присутність аніонів також може впливати на біосорбцію іонів металів. Аніони, наявні у розчині, можуть утворювати комплекси з іонами металу і знижувати здатність до біосорбції металу. Зокрема, біосорбційна здатність щодо іонів Ni^{2+} і Cd^{2+} зменшувалась за присутності аніонів етилендіамінтетраацетату (EDTA), сульфату, хлориду, фосфату, карбонату, глутамату, цитрату та пірофосфату за рахунок утворення комплексів (Kapoor, & Viraraghavan, 1997).

Виявлено, що процес біосорбції марганцю дріжджами є чутливим до присутності інших іонів металів у розчині. У контрольному експерименті без додавання інших металів було досягнуто максимальної біосорбції марганцю на рівні 41,3 мг/г біомаси. Однак додаткове внесення інших важких металів призвело до зниження

цього показника до 33 мг/г, що свідчить про конкурентний характер процесу біосорбції. Конкуренція між різними іонами металів за обмежену кількість активних центрів на поверхні дріжджових клітин призводить до зменшення ефективності поглинання кожного з них (Fadel та ін., 2017).

У ході досліджень біосорбції іонів Ni^{2+} та Cd^{2+} з бінарних розчинів металів клітинами *Saccharomyces carlsbergensis* ефективність біосорбції порівнювалась з біосорбцією окремих іонів металів. Було встановлено, що дріжджі *Saccharomyces carlsbergensis* демонструють вищу спорідненість до іонів Cd^{2+} порівняно з Ni^{2+} у процесі біосорбції як з індивідуальних, так і з бінарних розчинів. Конкурентна взаємодія між іонами металів за обмежену кількість активних центрів на поверхні клітин призводила до зниження ефективності поглинання кожного з металів за їх спільної наявності. Морфологічні зміни поверхні дріжджових клітин після сорбції, такі як утворення агрегатів, свідчать про утворення комплексів між іонами металів та функціональними групами біомаси (Kulkarni, Vidya Shetty, & Srinikethan, 2019).

Початкова концентрація іонів металів і біомаси. За сталої кількості біомаси швидкість поглинання іонів металу зростатиме зі збільшенням початкової концентрації металу. У випадку низької концентрації біомаси, іони металу з розчину не тільки адсорбуються на поверхні біомаси, але й потрапляють у внутрішньоклітинний простір через градієнт концентрації іонів металів. Із підвищенням концентрації біомаси *S. cerevisiae* біосорбція збільшується за рахунок більшої кількості доступних місць зв'язування для іонів металів і, отже, більшої кількості зв'язуючих комбінацій (Massoud, Khosravi-Darani, Sharifan, Asadi, &Younesi, 2020).

Поглинання іонів Pb^{2+} зросло з 0,38 мг/г до 2,34 мг/г при збільшенні концентрації біосорбенту на основі надлишкової біомаси пивних дріжджів з 0,5% до 2%. Поглинання свинцю дещо знижувалося, коли концентрація біосорбенту досягала 4% (2 мг/г) (Parvathi, Nagendran, & Nareshkumar, 2007).

Аналогічна ситуація спостерігалась у дослідженні впливу концентрації біомаси (від 4,0 г/л до 40,0 г/л) на ефективність біосорбції досліджуваних іонів металів (Co^{2+}, Zn^{2+} та Cu^{2+}) клітинами *Saccharomyces cerevisiae.* Було встановлено, що біосорбційна здатність мала найбільше значення при дозуванні біосорбенту 4,0 г/л (76,05% для Cu^{2+}, 79,01% для Co^{2+} та 83,37% для Zn^{2+}) у всіх випадках. Збільшення дози біосорбенту призводило до зниження біосорбційної здатності, і цей типовий для процесів біосорбції варіант був обумовлений зменшенням співвідношення між кількістю іонів металу і числом місць зв'язування біосорбенту (Savastru, Bulgariu, Zamfir, & Bulgariu, 2022).

Використання низької концентрації металу не дає змоги виявити справжню максимальну сорбційну ємність біосорбенту, оскільки багато місць зв'язування металу можуть бути не зайняті. Збільшення концентрації металу до повного насичення місць зв'язування біосорбенту виявляє повний потенціал поглинання металу. Після насичення біосорбенту подальше збільшення початкової концентрації металу не буде ефективним. У більшості опублікованих досліджень початкова концентрація металу, використана в експериментальних умовах, становила 5—200 мг/л (Redha, 2020).

Початкова концентрація іонів металу може значно вплинути на сорбційну ємність біомаси. Зі збільшенням концентрації іонів металу сорбційна ємність також

зростала, досягаючи насичення на рівні 30 мг/г і 22 мг/г відповідно для інактивованої та живої біомаси при концентрації іонів Pb^{2+} 300 мг/л. Збільшення початкової концентрації іонів металу до 350 мг/л призводило до зниження здатності до поглинання (El-Sayed, 2013).

Вік клітин, стан клітин (живі чи інактивовані). Жива біомаса завдяки активним метаболічним процесам демонструє високу ефективність і селективність поглинання металів. Однак вона вимагає спеціальних умов культивування і може бути чутливою до токсичного впливу високих концентрацій металів. Інактивована біомаса є більш стабільним і простим у застосуванні сорбентом, але її сорбційна здатність є менш селективною (Ayele, Haile, Alemu, & Kamaraj, 2021). Інактивована біомаса має багато переваг, включаючи високу стійкість до умов навколишнього середовища, більшу толерантність до токсичності, досить швидку регенерацію та поглинання повторного використання, високе відновлення сорбованих металів (Dhankhar, Rajesh, Hooda, & Anju, 2011).

Дріжджові клітини, інактивовані під впливом екстремальних хімічних і фізичних умов, можуть проявляти дуже різні властивості щодо накопичення металу порівняно з живими дріжджами.

Методи попередньої обробки дріжджових клітин *S. cerevisiae* можуть бути фізичними і хімічними. Фізичні методи включають вакуум, сублімацію, кип'ятіння, нагрівання, автоклавування та механічне руйнування. Хімічні методи включають обробку різними органічними та неорганічними реагентами, такими як кислоти та луги, метанол, формальдегід тощо. Встановлено, що ці методи певною мірою покращують біосорбцію металів. Лужна обробка біомаси значно збільшує здатність поглинати метал, тоді як кислотна обробка біомаси майже не впливає на ефективність процесу біосорбції (Mirmahdi, Mofid, Zoghi, Khosravi Darani, & Mortazavian, 2022).

Показано, що інактивована біомаса дріжджів виявилася ефективнішим сорбентом важких металів порівняно з живими клітинами. Це може бути пояснено тим, що відсутність клітинної мембрани в неактивних фізіологічно клітин забезпечує необмежений доступ іонів металів до внутрішніх структур, що значно збільшує сорбційну ємність. Крім того, інактивовані клітини мікроорганізмів не потребують поживних речовин і стійкі до токсичних металів. Фізико-хімічна модифікація біомаси, наприклад, фосфорилювання, дає змогу додатково підвищити її сорбційну здатність за рахунок створення нових активних центрів для зв'язування металів. Так, результати дослідження показали, що фосфорильовані дріжджові клітини здатні ефективно адсорбувати іони кадмію, міді, свинцю та цинку до досягнення вищої адсорбційної ємності (1 ммоль/г сухої клітинної маси), ніж було виявлено раніше для інактивованої біомаси дріжджів без додаткової обробки (Ojima та ін., 2019).

Деградовані клітини також мають більшу доступну площу поверхні та більше центрів зв'язування іонів металів на поверхні через руйнування клітинних мембран.

Склад поживного середовища. Додавання глюкози та інших поживних речовин (цистеїн, амоній сульфат, амоній фосфат) у середовище культивування для біосорбції металів живими клітинами посилює ріст живих клітин і полегшує біосорбцію.

Проте роль глюкози у біосорбції залежить від механізму сорбції металу. При дослідженні сорбції Cu^{2+}, Cr^{6+}, Cd^{2+}, Ni^{2+} живими клітинами *S. cerevisiae* попереднє внесення глюкози у середовище культивування клітин дріжджів дозволило збільшити кількість сорбованого металу, тоді як пряме додавання глюкози під час змішування суспензії дріжджів та іонів металів не впливало на кількість накопиченого металу (Stoll, & Dunkan, 1996). Додавання глюкози до суспензії живих дріжджових клітин за 5 хв до введення Sr^{2+} сприяло стимуляції його поглинання. Це явище було пояснено метаболічно залежним механізмом внутрішньоклітинного накопичення Sr^{2+}, головним чином у вакуолях (Avery, & Tobin, 1992).

Було досліджено вплив різних солей заліза, їхніх концентрацій, а також складу поживних середовищ (на ступінь збагачення металом дріжджів *S. cerevisiae* (LN-17). Склад поживних середовищ та умови культивування наведені в табл. 1.

Таблиця 1. **Концентрація заліза, в мг/г сухої речовини, в біомасі дріжджів залежно від джерела заліза та його концентрації** (Pas, Piskur, Sustaric, & Raspor, 2007)

Сполука заліза	Початкова концентрація Fe у середовищі, мкмоль/л				
	Контроль	10	50	70	100
Ферум (III) хлорид	0,081±0,019	0,449±0,028	1,371±0,249	1,649±0,032	1,979±0,147
Ферум (III) нітрат	0,090±0,003	0,573±0,056	1,407±0,055	1,640±0,070	2,345±0,068
Ферум етилендіамінтетраацетат	0,0072±0,018	0,152±0,015	0,095±0,007	—	0,095±0,003
Ферум (III) цитрат	0,031±0,003	2,290±0,171	1,084±0,058	—	0,547±0,037

На поживному середовищі, яке містило глюкозу, дріжджовий екстракт і пептон (середовище № 1), вдалося досягти концентрації сухої біомаси 2,864±0,037 г/л і вмісту заліза 7,650±0,145 мг/г сухої біомаси. На середовищі з дріжджовим екстрактом, пептоном і сахарозою (середовище № 2) концентрація сухої біомаси становила 2,414±0,042 г/л, а вміст заліза — 7,604±0,044 мг/г сухої біомаси. При використанні дріжджового екстракту, пептону та мальтози (середовище № 3) було отримано 2,627±0,036 г/л сухої біомаси з вмістом заліза 7,622±0,277 мг/г сухої біомаси. На суслі концентрація сухої біомаси склала 2,976±0,071 г/л із вмістом заліза 7,592±0,079 мг/г сухої біомаси. Використання патоки дало змогу отримати 2,364±0,024 г/л біомаси з вмістом заліза 7,281±0,336 мг/г сухої біомаси (Wang, Zhang, Su, Guan, & Ji, 2011).

Отже, варто відзначити, що концентрація заліза у *S. cerevisiae* (LN-17) незначно змінювалась залежно від складу середовища. Враховуючи вартість середовищ, для подальших досліджень було обрано сусло як середовище для культивування.

На наступному етапі було оцінено кількість біомаси та вміст заліза залежно від солі заліза, доданої до сусла, що диктувалось важливістю підбору оптимального джерела заліза для підвищення ефективності збагачення клітин металом. Найбільший вміст заліза в дріжджах — 7,854 Fe мг/г сухих клітин спостерігався із застосуванням ферум (II) сульфату, найменший вміст — 4,564 Fe мг/г сухих клітин із ферум (II) хлоридом. При дослідженні впливу різних концентрацій солей заліза на

приріст біомаси та концентрацію поглинутого металу встановлено, що за концентрації заліза 80—120 мг/л і приріст біомаси, і накопичення заліза були вищими. Оптимальна концентрація Fe у середовищі була визначена як 100 мг/л (Wang, Zhang, Su, Guan, & Ji, 2011).

Аеробність. Результати проведеного моніторингу кінетики росту дріжджової біомаси в напіваеробних та анаеробних умовах свідчать про помітне зростання швидкості росту дріжджових клітин при додаванні іонів заліза вже з самого початку процесу. Поглинання іонів заліза дріжджовою біомасою виявилося значно ефективнішим в анаеробних умовах, порівняно з напіваеробними. Анаеробні умови дали змогу досягти максимального поглинання заліза (10 мг/г сухої дріжджової біомаси) за 12 годин бродіння, тоді як у напіваеробних умовах поглинання було в чотири рази меншим (2,5 мг/г сухої дріжджової біомаси) і виявилося досягнутим лише через 16 год культивування (Stehlik-Tomas, Grba, Stanzer, Vahčić, & Gulan Zetić, 2003).

Природа джерела заліза. Різні солі заліза, додані до середовища культивування дріжджів, впливають на їх ріст і накопичення заліза по-різному.

Отримані результати дослідження процесу поглинання заліза дріжджами із середовища, що містить солі заліза різної концентрації, демонструють, що всі вивчені сполуки заліза, незалежно від концентрації, стимулювали ріст дріжджів порівняно з контрольним варіантом — культивуванням дріжджів без заліза (табл. 1). Із збільшенням концентрації ферум (III) хлориду та ферум (III) нітрату у середовищі до 100 мкмоль/л вміст заліза в біомасі дріжджів *S. cerevisiae* зростав до максимальної концентрації 2 мг Fe/г сухої маси. Додавання солі заліза Fe-EDTA до середовища культивування практично не вплинуло на здатність дріжджів *S. cerevisiae* акумулювати залізо, що, ймовірно, пов'язано з високою стійкістю цього комплексу. Найбільш ефективним джерелом заліза виявився ферум (III) цитрат. Оптимальна концентрація цитрату заліза, яка не призводила до утворення осаду, становила 100 мколь/л. За цієї концентрації максимальне накопичення заліза в клітинах дріжджів досягало близько 13 мг/г сухої маси. Отримані результати свідчать про те, що існує оптимальна концентрація солі заліза для забезпечення ефективного накопичення цього елемента в клітинах дріжджів. Перевищення цієї концентрації призводить до зниження ефективності процесу, що може бути пов'язано з токсичним впливом високих концентрацій іонів заліза на клітини (Pas, Piskur, Sustaric, & Raspor, 2007).

Результати експериментів з культивування дріжджів у присутності різних форм заліза та їх впливу на зростання та збагачення біомаси дріжджів, представлені в літературі, не завжди збігаються в оцінюванні впливу конкретних сполук заліза на показники культивування. Так, після культивування дріжджів на середовищі із ферум (II) хлоридом і ферум (II) сульфатом (концентрація 15 і 25 мг Fe/л), було отримано значення внутрішньоклітинного заліза — 2,832 мг Fe/г сухої речовини, що в 27 разів перевищує кількість заліза, спостережувану в контрольних умовах. Проте на відміну від попереднього дослідження додавання в середовище ферум (III) цитрату не призводило до росту біомаси. Автори пояснили це тим, що пригнічення росту дріжджів, ініційоване лимонною кислотою, залежить від pH середовища. При підвищених рівнях pH лимонна кислота перебуває в більш дисоційованій формі, що підвищує ймовірність хелатування іонів, особливо Ca^{+2} і Mg^{+2}, з поживного середовища. Менші значення внутрішньоклітинного заліза (порівняно з $FeSO_4$ та

$FeCl_2$) могли бути обумовлені pH 4,4 середовища, де ферум цитрат не повністю дисоціював (Gaensly, Picheth, Brand, & Bonfim, 2014).

Внутрішньоклітинний вміст заліза в клітинах дріжджів у процесі культивування із додаванням ферум етилендіамінтетраацетату (Fe-EDTA) становив близько 0,207 мг Fe/г сухої речовини. Ці значення еквівалентні вмісту внутрішньоклітинного заліза у клітинах дріжджів, вирощених у варіанті культивування без додаткового внесення заліза (контроль), 0,103 мг Fe/г сухої речовини, і відповідали значенням, отриманим у дослідженні Pas та ін.

Використання різних форм заліза дає змогу відібрати й охарактеризувати штами дріжджів як чутливі до заліза, так і стійкі до цього елемента. У дослідженні Martinez-Garay були використані дві різні форми заліза ($FeCl_3$ та $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$), що дало змогу виділити штами дріжджів, які чутливі до заліза, а також ті, що демонструють стійкість. Чутливі до заліза штами при підвищенні концентрації заліза у середовищі накопичували його швидше, ніж стійкі штами. Чутливі штами, відібрані в цьому дослідженні, накопичували більше ендогенного заліза (близько 5 мг Fe/г сухої маси), ніж лабораторні та малазійські штами (3 мг Fe/г сухої маси) при вирощуванні на середовищі з додаванням 7 ммоль/л $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$. Чутливі до заліза штами накопичували навіть більше заліза у середовищі із концентрацією 7 ммоль $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$, ніж стійкі до заліза штами при 8 ммоль $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ (від 3 до 4 мг Fe/г сухої маси) (Martínez-Garay, de Llanos, Romero, Martínez-Pastor, & Puig, 2016).

Отже, інтенсивність накопичення заліза дріжджовими клітинами залежить від багатьох факторів, серед яких важливими є умови культивування, такі як склад середовищ та рівень pH, інтенсивність аерації та початкова концентрація заліза. Особливо вагомий вплив має форма, в якій залізо вводиться до середовища. Узагальнені дані щодо умов культивування дріжджів, збагачених залізом та показники накопичення цього елементу наведені в табл. 2.

Таблиця 2. **Умови культивування та джерела заліза, що використовувались для збагачення дріжджів**

Мікроорганізм	Умови культивування дріжджів (джерело вуглецю та азоту; параметри процесу)	Джерела заліза та їх концентрації, що вносяться до середовища	Максимальна кількість накопиченого заліза дріжджами, мг/г сухої речовини	Джерело
Saccharomyces cerevisiae TVG_4	Меляса бурякова, діамонію гідрофосфат, діамонію сульфат; pH середовища 5,0, 30 °C, 24 год	Ферум (III) хлорид — 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 г/л	—	Stehlik-Tomas та ін., 2003
Saccharomyces cerevisiae ZIM 2155 (S288C)	Глюкоза, сульфат амонію, pH середовища 4,0, 28 °C, 200 об/хв, 24 год	Розчини солей заліза додавали для отримання у середовищі початкових концентрацій 0,1, 1, 10, 50, 100 ммоль/л Fe (III) цитрату або 10, 50, 70, 100 мкмоль/л ферум (III) хлориду, ферум (III) нітрату та Fe—EDTA	13,9	Pas та ін., 2007

Продовження таблиці 2

Saccharomyces cerevisiae LN-17	Поживне середовище 1: глюкоза, дріжджовий екстракт, пептон, глюкоза. Поживне середовище 2: дріжджовий екстракт, пептон, сахароза. Поживне середовище 3: дріжджовий екстракт, пептон, мальтоза. Поживне середовище 4: сахароза, $(NH_4)_2SO_4$, 30 °C 200 об/хв, 60 год, pH середовищ 6,0	Ферум (II) сульфат — 100 мг/л	7,8	Wang та ін., 2011
Saccharomyces cerevisiae	Декстроза, пептон, дріжджовий екстракт, солодовий екстракт, 150 об/хв, 28 °C, 20 год	15 і 25 мг Fe/л ферум (II) сульфату, ферум (III) сульфату, ферум (II) хлориду, ферум (III) хлориду, ферум (III) нітрату, ферум (III) цитрат та Fe—EDTA	2,8	Gaensly та ін., 2014
S. cerevisiae 11 B1	Склад середовища не вказаний, 30 °C, 20 год	200 мкг/мл Fe^{2+} ферум (II) хлориду, ферум (II) сульфату, ферум (III) хлориду, ферум (III) нітрату та ферум (III) цитрат в концентрації 100 мкг Fe/мл	—	Nowosad та ін., 2021
Saccharomyces cerevisiae	Меляса, діамонію сульфат 200 об/хв, 30 °C, 18 год	Ферум (II) сульфат — 5 ммоль/л	1,6	Chen та ін. 2024
Saccharomyces boulardii (ATCC 74068)	Декстроза, пептон, 37 °C, 150 об/хв	Ферум (II) сульфат	1,8	Tafazzoli та ін., 2024
Saccharomyces boulardii (ATCC 74068)	Меляса, 37 °C, 150 об/хв	Ферум (II) сульфат	27	Tafazzoli та ін., 2024

2. Методи кількісної оцінки заліза в біологічних об'єктах. Визначення вмісту заліза у біологічних зразках є багатоетапним процесом. Попередня обробка зразків, спрямована на депротеїнізацію та вивільнення заліза з білкових комплексів, і є критичним етапом. Класичні підходи передбачають використання сумішей хлористоводневої кислоти та перманганату калію (Fish, 1988), проте для забезпечення повного вилучення заліза з дріжджових клітин, що мають міцну клітинну стінку було запропоновано застосовувати більш агресивні реагенти, наприклад, 3% азотну кислоту (Tamarit, Irazusta, Moreno-Cermeño, & Ros, 2006), суміш азотної та хлорної кислот (Chen та ін., 2024), 65% азотної та хлористоводневої кислоти

(Tafazzoli, Ghavami, & Khosravi-Darani, 2024). Кількісне визначення заліза здійснюється за допомогою широкого спектра аналітичних методів, наприклад, атомно-абсорбційної спектрометрії, колориметричного визначення, титрування, флуориметричних, спектрометричних, мас-спектрометричних чи радіоактивних методів, кожен з яких має свої переваги та обмеження.

Оптично-емісійна спектрометрія з індуктивно зв'язаною плазмою (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, ICP-OES). Це високоточний і чутливий метод аналізу, який дає змогу кількісно визначити вміст заліза у різноманітних зразках у широкому діапазоні концентрацій. Під час аналізу пробу у вигляді розчину вводять у високотемпературну аргонову плазму, де атоми заліза збуджуються і випромінюють світло на характерній довжині хвилі. Інтенсивність цього випромінювання пропорційна концентрації заліза в зразку, що дає змогу проводити точні кількісні визначення заліза в біологічних об'єктах (Costo та ін., 2019, Tafazzoli, 2024; Orłowska, 2023). Недоліком цього методу можна назвати високу вартість і складність апаратури для проведення аналізу.

Атомно-абсорбційна спектрометрія (AAS). Один з найпоширеніших методів визначення заліза в біологічних об'єктах, зокрема в дріжджах (Bağ, 1998; Shin, 2001; Pas, 2007; Pirman, 2012; Kyyaly, 2015). В основі методу лежить явище поглинання світла атомами заліза. Зразок, переведений в атомний стан за допомогою високої температури, взаємодіє зі світловим променем, частково поглинаючи його. Інтенсивність поглиненого світла прямо пропорційна концентрації атомів заліза в аналізованому зразку, що дає змогу проводити точні кількісні визначення. Серед переваг методу можна назвати чутливість, специфічність, можливість проводити аналіз у широкому діапазоні концентрацій заліза. Висока вартість обладнання є недоліком методу.

Флуоресцентні зонди. Для визначення внутрішньоклітинних потоків іонів металів, зокрема і заліза, застосовують флуоресцентні зонди. Їхній принцип роботи заснований на явищі флуоресценції, такий зонд абсорбує світло певної довжини хвилі, і його електрони переходять на більш високі енергетичні рівні. Після переходу електронів в основний стан, зонд випромінює світло в довжині хвилі, що відрізняється від світла, яке він поглинув. Флуоресцентне випромінювання може бути виміряно за допомогою флуоресцентного спектрофотометра або іншого відповідного обладнання. Зміни в флуоресцентному сигналі можуть вказувати на зміни у властивостях середовища, взаємодії з іншими молекулами або інші процеси. Наприклад, перший з флуоресцентних зондів — кальцеїн, зараз є комерційно доступним і широко використовується для моніторингу лабільного заліза в живих системах за допомогою флуоресцентної мікроскопії та флуорометрії (Hirayama, & Nagasawa, 2017).

На відміну від вищезазначених методів, колориметричні та спектрофотометричні методи є економічно вигіднішими, простішими. Ці методи ґрунтуються на вимірюванні змін абсорбції за допомогою хромогенних реагентів (хелаторів). Утворені з такими реагентами комплекси іонів металу та ліганду демонструють специфічні спектри поглинання з характерними кольорами у видимій області електромагнітного спектра. Комплекси метал-іони мають високі константи стабільності та питомий молярний показник поглинання, зміни кольору прямо пропорційні концентрації іонів металу в розчині, що забезпечує точне кількісне визначення

(Smith та ін., 2021). Серед найбільш поширених хелаторів, які застосовуються для визначення заліза в біологічних об'єктах, можна виділити: ферозин (Riemer, Hoepken, Czerwinska, Robinson, & Dringen, 2004); батофенантроліндисульфонова кислота (Tamarit, 2006; Gaensly, 2014); 1,10-фенантролін (Herrera, 2007, Chen, 2024); ферен (Abbasi, Abbina, Gill, Bhagat, & Kizhakkedathu, 2021).

3. Перспективи практичного застосування дріжджів, збагачених залізом. Одним із ефективних способів профілактики та лікування дефіциту заліза є пероральний прийом лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять залізо.

Однак їх використання пов'язане з ризиком виникнення побічних ефектів, серед яких найчастіше зустрічаються розлади шлунково-кишкового тракту: нудота, блювота, біль у животі, запор, метеоризм, діарея. Ці симптоми виникають у 40% пацієнтів (von Haehling, Ebner, Evertz, Ponikowski, & Anker, 2019). У зв'язку з цим збагачення залізом харчових продуктів і напоїв з використанням біотехнологічних підходів є перспективним та економічно доцільним підходом для масштабного впровадження (Kumar та ін., 2020).

Забезпечення організму достатньою кількістю заліза та профілактика його дефіциту за допомогою збагачених продуктів харчування має на меті безпечне й ефективне поповнення цього важливого елемента. При виборі харчового продукту для збагачення залізом у промисловому виробництві необхідно врахувати кілька ключових факторів:

1) продукт має бути доступним та широко вживатись всіма соціальними групами;

2) після процедури збагачення залізом продукт має зберегти свої органолептичні властивості;

3) після процедури збагачення організм має легко засвоювати залізо з продукту, тобто біодоступність заліза має бути високою.

Продукти, які містять додаткову кількість заліза, можна розділити на дві групи: спеціалізовані для конкретних груп населення та загальнодоступні для широкого кола людей. Перша група включає продукти, орієнтовані на конкретні категорії людей, такі як вагітні жінки, підлітки з менструальним циклом, жінки в період лактації, діти, новонароджені, люди похилого віку, спортсмени та військові. Друга група продуктів, які містять більше заліза, призначена для загальної профілактики та зменшення ризику дефіциту заліза в населення. З цією метою кількість заліза в основних продуктах харчування, таких як хліб, рис, сіль, сир і соєвий соус, збільшується шляхом додавання органічних і неорганічних солей заліза (Man та ін., 2022).

В останні роки мікроорганізми, особливо дріжджі, використовуються як абсорбенти металів для отримання органічних комплексів мікроелементів, які легше перетравлюються і засвоюються при посиленій біологічній активності. Також вони недорогі у виробництві. Крім низької вартості, збагачені мікроелементами дріжджі можуть ефективно замінити інші неорганічні і органічні мікроелементні харчові добавки (Sun та ін., 2022).

З метою ширшого використання дріжджів, збагачених залізом, науковці прагнуть розробити технології їх застосування у виробництві борошна та хлібобулочних виробів. При цьому особлива увага приділяється вибору найкращого джерела

заліза й оцінці впливу цього процесу на технологічні характеристики та органолептичні властивості кінцевого продукту.

Серед зернових культур основним продуктом для дослідження біодоступності заліза *in vitro* є пшеничне борошно. Найчастіше для досліджень збагачення зернових використовується ферум (II) сульфат у комбінації з аскорбіновою кислотою та натрій етилендіамінтетраацетатом (Quintaes, Barbera, & Cilla, 2017).

У дослідженні впливу добавок заліза на реологічні властивості тіста та технологічну якість хліба з цільнозернового пшеничного борошна результати показали, що додавання різних сполук заліза впливає на реологічні властивості тіста, однак виробництво булочок залишалося можливим. Серед усіх випробуваних сполук заліза ферум—натрій—етилендіамінтетраацетат (NaFeEDTA) виявився найбільш ефективним для збагачення, оскільки мав найвищі рівні розчинності — 44,8%. Мікрокапсульований ферум (II) сульфат і відновлене залізо показали найнижчу біодоступність — 5,4 і 18,3% відповідно (Rebellato та ін., 2017).

Аналогічні дослідження проводилися з пшеничним борошном для випікання французького хліба. Виявилося, що французький хліб, збагачений ферум—натрій—етилендіамінтетраацетатом (NaFeEDTA), забезпечує найвищу ефективність доповнення залізом. У такому хлібі вміст заліза становив 5,08 мг Fe на 100 г сухої речовини, а біодоступність досягала 50,38%. Для порівняння, додавання ферум (II) сульфату забезпечувало загальний вміст заліза 4,33 мг Fe на 100 г сухої речовини при біодоступності 37,76% (Rebellato, Castro Lima, Silva, Steel, & Lima Pallone, 2017).

Серед науковців немає єдиної думки щодо того, яке джерело заліза є найбільш оптимальним для збагачення харчових продуктів. Наприклад, серед ферум (II) хлориду, ферум (III) хлориду, ферум (II) сульфату, ферум (III) нітрату та ферум цитрату найбільша акумуляція заліза дріжджами спостерігалась для ферум (III) хлориду та ферум (III) нітрату. Умови культивування зазначені в табл. 2. З метою інтенсифікації накопичення заліза дослідниками застосовувалось імпульсне електричне поле (PEF), що дало змогу збільшити кількість накопиченого заліза з 18,68 мг Fe/г сухої маси (для контрольної культури з додаванням заліза, але не обробленої PEF) до 48,01 мг Fe/г сухої маси (Nowosad, Sujka, Pankiewicz, Miklavčič, & Arczewska, 2021).

У продовження попереднього дослідження були виготовлені коржі з додаванням дріжджів, збагачених іонами заліза, двома методами: шляхом безпосереднього внесення солі заліза в поживне середовище та додатковим підтриманням накопичення заліза за допомогою імпульсного електричного поля (PEF). Було вивчено потенційну біодоступність заліза в отриманому хлібі, а також досліджено його поживні й антиоксидантні властивості. Відмічена значна різниця в потенційній біодоступності заліза між зразками: хліб, виготовлений з використанням незбагачених дріжджів, містив лише близько 3 мг Fe на 100 г сухої маси, тоді як хліб із збагаченими дріжджами без PEF складав приблизно 266 мг Fe на 100 г сухої маси. Використання збагачених залізом дріжджів за умови дії PEF дало змогу підвищити вміст заліза в коржах майже до 386 мг Fe на 100 г сухої маси (Nowosad, & Sujka, 2021).

Багато публікацій зосереджують увагу на практичному застосуванні дріжджів, збагачених залізом на лабораторних тваринах. Ці дослідження дають змогу оцінити вплив таких дріжджів на рівень гемоглобіну, ферритину та інші показники крові, що характеризують залізоакумулювальні системи організму. Це дає змогу визначити оптимальні дози та форми заліза для ефективної профілактики й лікування залізодефіцитних анемій.

Були проведені дослідження впливу різних концентрацій заліза у дріжджовій біомасі на біодоступність і рівень заліза в печінці щурів. Самців щурів розділили на три групи залежно від дієти. До раціону харчування першої групи додавали дріжджову біомасу, збагачену залізом (20, 35 і 50 мг Fe), другої групи — ферум (II) сульфат (50 мг Fe), до харчування третьої контрольної групи залізо не додавалось. Результати показали значно кращу біодоступність заліза з дріжджової біомаси (на 36%), ніж доступність заліза з раціону, збагаченого неорганічною сіллю. Акумулювання заліза в печінці залежало від концентрації елемента в дріжджовій біомасі. Було виявлено, що в печінці другої групи акумулювалась значно менша кількість заліза, ніж у першій групі (147,9 і 200,4 мкг/г відповідно) (Pirman, & Orešnik, 2012).

Висока біодоступність заліза із збагаченої дріжджової біомаси, але з використанням іншого джерела заліза, підтверджується в наступному дослідженні. Вивчаючи вплив органічних і неорганічних сполук заліза на здоров'я анемічних щурів, було встановлено, що максимальне накопичення заліза в клітинах дріжджів досягало 15 мг/кг за умови використання 32 мМ ферум (III) цитрату. У групи щурів, яких годували дріжджами, збагаченими залізом, спостерігалися найвища біодоступність цього мікроелемента (36,35% у порівнянні з контрольною групою) та підвищена концентрація заліза в тканинах печінки (1,29 мкг/г проти 0,93 мкг/г у контрольній групі). Гістологічний аналіз печінки, нирок, серця та селезінки щурів з цієї групи показав повне усунення тяжких анемічних ушкоджень завдяки вживанню дріжджів, збагачених залізом (Kyyaly, Powell, & Ramadan, 2015).

В іншому дослідженні мишей із залізодефіцитною анемією порівнювали ефективність різних форм заліза: органічної (ферум (II) гліцинат), неорганічної (ферум (II) сульфат) та біологічної (дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, збагачені залізом — Fe-F8). Результати показали, що біологічна форма заліза Fe-F8 значно перевершує інші форми за здатністю відновлювати рівень гемоглобіну, покращувати стан слизової оболонки кишечника та печінки. Концентрація заліза в сироватці крові була найвищою у тварин, які отримували Fe-F8, що свідчить про його високу біодоступність (Chen та ін., 2024).

Промисловий процес збагачення дріжджів залізом вимагає впровадження ресурсозберігаючих технологій для мінімізації негативного впливу на довкілля та підвищення ефективності виробництва. Одним із перспективних напрямів таких технологій є генетична модифікація дріжджів.

Представлені харчові дріжджі *S. cerevisiae*, модифіковані для експресії Н-феритину. Ця модифікація суттєво підвищила здатність дріжджів накопичувати залізо. Ефективність дріжджово-феритинового комплексу (YFC) була перевірена на моделях щурів та мавп із дефіцитом заліза. Вживання YFC у щурів покращило рівень гемоглобіну (Hgb), гематокриту (Hct) та підвищило концентрацію заліза у печінці та селезінці. YFC показав вищу ефективність у збільшенні Hgb та Hct порівняно з

сульфатом заліза, навіть за умови меншого споживання заліза протягом того ж періоду. У мавп додавання YFC до раціону значно підвищило рівень гемоглобіну всього за один місяць (James та ін., 2021).

Важливу роль у транспорті та поглинанні заліза, крім феритину, відіграють також сидерофори. Zhang та ін. дослідили роль сидерофорів у транспортуванні заліза в умовах високого вмісту заліза та застосування сидерофорів для збагачення елементами. Результати показали, сидерофор TZT-12 з толерантного до заліза штама (LK1110) сприяв росту дріжджів і збільшував вміст заліза всередині клітин. Максимальний внутрішньоклітинний вміст заліза 14,44 мг/г (більше на 74,65% порівняно з контрольним дослідом) був досягнутий при додаванні 24 мкг/мл TZT-12 до середовища культивування. Дріжджі, збагачені сидерофором-залізом (S-ферум збагачені дріжджі), показали максимальну концентрацію внутрішньоклітинного заліза 59,40 мг/г та були використані для дієти хворих на анемію щурів. Порівняльна оцінка характеристик росту, показників гематологічних тестів і вмісту заліза в органах продемонструвала, що дріжджі, збагачені S-залізом, досягли кращого ефекту у полегшенні симптомів залізодефіцитної анемії у щурів, ніж неорганічне залізо (ферум (II) сульфат) (Zhang та ін., 2021).

Висновки

Наукові публікації, в яких розглядаються результати збагачення дріжджів залізом, демонструють, що процес є досить складним і залежить від багатьох факторів. Оптимізація умов культивування дріжджів і вибір відповідних сполук заліза набуває особливої актуальності для забезпечення максимального накопичення заліза в клітинах та його ефективного використання організмом. Активно досліджуються різноманітні форми заліза та їхня можливість поглинання дріжджовими клітинами для досягнення максимально ефективного збагачення. Слід відмітити, що серед наукових публікацій досить мало досліджень впливу варіабельності умов культивування на кількість накопиченого заліза в дріжджах.

Більшість наукових праць зосереджена на вивченні впливу дріжджів, збагачених залізом, на живий організм. Зокрема, проводяться дослідження на тваринах з метою оцінки ефективності таких дріжджів у корекції залізодефіцитних станів. Аналізуються зміни показників крові, таких як рівень гемоглобіну та феритину, а також загальний стан здоров'я тварин, які отримували дріжджі, збагачені залізом.

Проте, незважаючи на потенційні переваги, використання дріжджів, збагачених мікроелементами, викликає ряд питань щодо безпеки. Відсутність чітких регуляторних норм щодо таких продуктів стимулює проведення додаткових досліджень для оцінки їх біодоступності й токсичності. Важливим напрямком досліджень є вивчення форм, в яких залізо зв'язане в дріжджових клітинах, а також розробка методів виділення та детоксикації цих сполук.

Варто зазначити, що, незважаючи на значні досягнення в галузі аналітичної хімії, визначення вмісту заліза в біологічних зразках все ще залишається складним завданням. Основні виклики пов'язані з гетерогенністю зразків, оскільки біологічні зразки є складними матрицями, що містять велику кількість інших речовин, які можуть інтерферувати із визначенням заліза; низькими концентраціями аналіту, що вимагає використання високочутливих методів аналізу та різноманітністю форм

заліза (вільне, зв'язане з білками, включене до складу складних комплексів), що ускладнює його визначення.

Майбутні дослідження повинні бути спрямовані на розробку нових, більш точних і швидких методів визначення заліза, а також на створення стандартних протоколів для аналізу різних типів біологічних зразків.

Література

Abbasi, U., Abbina, S., Gill, A., Bhagat, V., & Kizhakkedathu, J. N. (2021). A facile colorimetric method for the quantification of labile iron pool and total iron in cells and tissue specimens. *Scientific Reports*, 11(1), 6008. DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-021-85387-z.

Ali, A. R. (2020). Removal of heavy metals from aqueous media by biosorption. *Arab Journal of Basic and Applied Sciences*, 27(1), 183—193. DOI: https://doi.org/10.1080/25765299.2020.1756177.

Avery, S. V., & Tobin, J. M. (1992). Mechanisms of strontium uptake by laboratory and brewing strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 58, 3883—3889.

Ayele, A., Haile, S., Alemu, D., & Kamaraj, M. (2021). Comparative utilization of dead and live fungal biomass for the removal of heavy metal: A concise review. *Scientific World Journal*, 2021, 5588111. DOI: https://doi.org/10.1155/2021/5588111.

Bahafid, W., Joutey, N. T., Asri, M., Sayel, H., Tirry, N., & El Ghachtouli, N. (2017). Yeast Biomass: An Alternative for Bioremediation of Heavy Metals. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. DOI: 10.5772/intechopen.70559.

Bag, H., Lale, M., & Türker, A. R. (1998). Determination of iron and nickel by flame atomic absorption spectrophotometry after preconcentration on *Saccharomyces cerevisiae* immobilized sepiolite. *Talanta*, 47(3), 689—696. PMID: 18967373.

Brady, D., & Duncan, J. R. (1994a). Bioaccumulation of metal cations by *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 41, 149—154oc 2004;10:317—26.

Chen, Y., Pang, Y., Wan, H. et al. (2024). Production of iron-enriched yeast and its application in the treatment of iron-deficiency anemia. *Biometals*, 37, 1023—1035. DOI: https://doi.org/10.1007/s10534-024-00592-3.

Connor, J. R. et al. (2021). Nutritional yeast ferritin-iron complex: A novel source of dietary iron. *American Journal of Food and Nutrition*, 9(3), 122—131. DOI: https://doi.org/10.12691/ajfn-9-3-5.

Correnti, M., Gammella, E., Cairo, G., & Recalcati, S. (2024). Iron absorption: Molecular and pathophysiological aspects. *Metabolites*, 14(4), 228. DOI: https://doi.org/10.3390/metabo14040228.

Costo, R., Heinke, D., Grüttner, C., Westphal, F., Morales, M. P., Veintemillas-Verdaguer, S., & Gehrke, N. (2019). Improving the reliability of the iron concentration quantification for iron oxide nanoparticle suspensions: a two-institutions study. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 411(9), 1895—1903. DOI: 10.1007/s00216-018-1463-2.

De Rossi, A., Rigon, M. R., Zaparoli, M., & et al. (2018). Chromium (VI) biosorption by *Saccharomyces cerevisiae* subjected to chemical and thermal treatments. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 19179—19186. DOI: https://doi.org/10.1007/s11356-018-2377-4.

Diego Quintaes K., Barberá, R., & Cilla, A. (2017). Iron bioavailability in iron-fortified cereal foods: The contribution of in vitro studies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(10), 2028—2041. DOI: 10.1080/10408398.2013.866543. PMID: 25830598.

Dhankhar, R., & Hooda, A. (2011). Fungal biosorption — an alternative to meet the challenges of heavy metal pollution in aqueous solutions. *Environmental Technology*, 32(5), 467—491. DOI: https://doi.org/10.1080/09593330.2011.572922.

Dutt, S., Hamza, I., & Bartnikas, T. B. (2022). Molecular mechanisms of iron and heme metabolism. *Annual Review of Nutrition*, 42, 311—335. DOI: https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-062320-112625.

El-Sayed, M. T. (2013). Removal of lead (II) by *Saccharomyces cerevisiae* AUMC 3875. *Annals of Microbiology*, 63, 1459—1470. DOI: https://doi.org/10.1007/s13213-013-0609-x.

Fadel, M., Hassanein, N. M., Elshafei, M. M., Mostafa, A. H., Ahmed, M. A., & Khater, H. M. (2017). Biosorption of manganese from groundwater by biomass of *Saccharomyces cerevisiae*. *HBRC Journal*, 13(1), 106—113. DOI: https://doi.org/10.1016/j.hbrcj.2014.12.006.

Farhan, S. N., & Khadom, A. A. (2015). Biosorption of heavy metals from aqueous solutions by *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Industrial Chemistry*, 6, 119—130. DOI: https://doi.org/10.1007/s40090-015-0038-8.

Ferraz, A. I., Tavares, T., & Teixeira, J. A. (2004). Cr(III) removal and recovery from *Saccharomyces cerevisiae*. *Chemical Engineering Journal*, 105, 11—20.

Fish, W. W. (1988). Rapid colorimetric micromethod for the quantitation of complexed iron in biological samples. *Methods in Enzymology*, 158, 357—364. DOI: https://doi.org/10.1016/0076-6879(88)58067-9.

Fourest, E., & Roux, J. C. (1992). Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-products: mechanisms and influence of pH. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 37, 399—403.

Gaensly, F., Picheth, G., Brand, D., & Bonfim, T. M. (2014). The uptake of different iron salts by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(2), 491—494. DOI: 10.1590/s1517-83822014000200016.

GBD 2021 Anaemia Collaborators. (2023). Prevalence, years lived with disability, and trends in anaemia burden by severity and cause, 1990—2021: Findings from the Global Burden of Disease Study 2021. *Lancet Haematology*, 10(9), e713—e734. DOI: https://doi.org/10.1016/S2352-3026(23)00160-6.

Goyal, N., Jain, S. C., & Banerjee, U. C. (2003). Comparative studies on the microbial adsorption of heavy metals. *Advances in Environmental Research*, 7, 311—319.

Von Haehling, S., Ebner, N., Evertz, R., Ponikowski, P., & Anker, S. D. (2019). Iron Deficiency in Heart Failure: An Overview. *JACC Heart Failure*, 7(1), 36—46. DOI: 10.1016/j.jchf.2018.07.015. Epub 2018 Dec 12. PMID: 30553903.

Hansda, A., Kumar, V., & Anshumali. (2016). A comparative review towards potential of microbial cells for heavy metal removal with emphasis on biosorption and bioaccumulation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(10), 170. DOI: https://doi.org/10.1007/s11274-016-2117-1.

Herrera, L., Ruiz, P., Aguillon, J. C., & Fehrmann, A. (2007). A new spectrophotometric method for the determination of ferrous iron in the presence of ferric iron. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 44(3), 171—181. DOI: 10.1002/jctb.280440302.

Hirayama, T., & Nagasawa, H. (2017). Chemical tools for detecting Fe ions. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 60(1), 39—48. DOI: 10.3164/jcbn.16-70. PMID: 28163381; PMCID: PMC5281535.

Huang, H., Zhao, Y., Xu, Z., Ding, Y., Zhou, X., & Dong, M. (2020). A high Mn(II)-tolerance strain, *Bacillus thuringiensis* HM7, isolated from manganese ore and its biosorption characteristics. *PeerJ*, 8, e8589. DOI: https://doi.org/10.7717/peerj.8589.

Ibrahim, R., Djide, M. N., & Lapik, C. (2020). The influence of solution pH on the absorption of heavy metals Cr(VI) by *Saccharomyces cerevisiae* biomass. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 419(1), 012170. DOI: https://doi.org/10.1088/1755-1315/419/1/012170.

Jach, M. E., Serefko, A., Ziaja, M., & Kieliszek, M. (2022). Yeast protein as an easily accessible food source. *Metabolites*, 12(1), 63. DOI: https://doi.org/10.3390/metabo12010063.

Jena, P. S., Pradhan, A., Nanda, S. P., Dash, A. K., & Naik, B. (2022). Biosorption of heavy metals from wastewater using *Saccharomyces cerevisiae* as a biosorbent: A mini review. *Materials Today: Proceedings*, 67(8), 1140—1146. DOI: https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.07.306.

Kapoor, A., & Viraraghavan, T. (1997). *Fungi as biosorption*. In: Wase DAJ, Forster CF, editors. Biosorbents for Metal Ions. London, UK: Taylor & Francis.

Kulkarni, R. M., Vidya Shetty, K., & Srinikethan, G. (2019). Kinetic and equilibrium modeling of biosorption of nickel (II) and cadmium (II) on brewery sludge. *Water Science and Technology*, 79(5), 888—894. DOI: https://doi.org/10.2166/wst.2019.090.

Kumar, S., Anukiruthika, T., Dutta, S., Kashyap, A. V., Moses, J. A., & Anandharamakrishnan, C. (2020). Iron deficiency anemia: A comprehensive review on iron absorption, bioavailability and emerging food fortification approaches. *Trends in Food Science & Technology*, 99, 58—75. DOI: https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.021.

Kyyaly, M. A., Powell, C., & Ramadan, E. (2015). Preparation of iron-enriched baker's yeast and its efficiency in recovery of rats from dietary iron deficiency. *Nutrition*, 31(9), 1155—1164. DOI: 10.1016/j.nut.2015.04.017.

Machado, M. D., Soares, E. V., & Soares, H. M. V. M. (2010). Removal of heavy metals using a brewer's yeast strain of *Saccharomyces cerevisiae*: Chemical speciation as a tool in the prediction and improvement of treatment efficiency of real electroplating effluents. *Journal of Hazardous Materials*, 180(1—3), 347—353. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.04.037.

Man, Y., Xu, T., Adhikari, B., Zhou, C., Wang, Y., & Wang, B. (2022). Iron supplementation and iron-fortified foods: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(16), 4504—4525. DOI: https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1876623.

Martinez-Garay, C. A., de Llanos, R., Romero, A. M., Martínez-Pastor, M. T., & Puig, S. (2016). Responses of *Saccharomyces cerevisiae* strains from different origins to elevated iron concentrations. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(6), 1906—1916. DOI: https://doi.org/10.1128/AEM.03464-15.

Massoud, R., Khosravi-Darani, K., Sharifan, A., Asadi, G. H., & Younesi, H. (2020). The biosorption capacity of *Saccharomyces cerevisiae* for cadmium in milk. *Dairy*, 1(2), 169—176. DOI: https://doi.org/10.3390/dairy1020011.

Mirmahdi, R. S., Mofid, V., Zoghi, A., Khosravi Darani, K., & Mortazavian, A. M. (2022). Risk of low stability *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763-heavy metals complex in gastrointestinal simulated conditions. *Heliyon*, 8(5), e09452. DOI: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09452.

Nowosad, K., & Sujka, M. (2021). The Use of Iron-Enriched Yeast for the Production of Flatbread. *Molecules*, 26(17), 5204. DOI: 10.3390/molecules26175204. PMID: 34500637; PMCID: PMC8434235.

Nowosad, K., Sujka, M., Pankiewicz, U., Miklavčič, D., & Arczewska, M. (2021). Pulsed Electric Field (PEF) Enhances Iron Uptake by the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biomolecules*, 11(6), 850. DOI: 10.3390/biom11060850. PMID: 34200319; PMCID: PMC8227778.

Ojima, Y., Kosako, S., Kihara, M., Miyoshi, N., Igarashi, K., & Azuma, M. (2019). Recovering metals from aqueous solutions by biosorption onto phosphorylated dry baker's yeast. *Scientific Reports*, 9(1), 225. DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-018-36306-2.

Orlowska, A., Proch, J., & Niedzielski, P. (2023). A fast and efficient procedure of iron species determination based on HPLC with a short column and detection in high resolution ICP OES. *Molecules*, 28(11), 4539. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules28114539.

Özer, A., & Özer, D. (2003). Comparative study of the biosorption of Pb(II), Ni(II) and Cr(VI) ions onto *S. cerevisiae*: determination of biosorption heats. *Journal of Hazardous Materials B*, 100, 219—229.

Parvathi, K., Nagendran, R., & Nareshkumar, R. (2007). Lead biosorption onto waste beer yeast by-product: a means to decontaminate effluent generated from battery manufacturing industry. *Electronic Journal of Biotechnology*, 10, 92—105.

Pas, M., Piskur, B., Sustaric, M., & Raspor, P. (2007). Iron-enriched yeast biomass-a promising mineral feed supplement. *Bioresource Technology*, 98(8), 1622–1628. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.06.002.

Pirman, T., & Orešnik, A. (2012). Fe bioavailability from Fe-enriched yeast biomass in growing rats. *Animal*, 6(2), 221—226. DOI: https://doi.org/10.1017/S1751731111001546. PMID: 22436179.

Piskin, E., Cianciosi, D., Gulec, S., Tomas, M., & Capanoglu, E. (2022). Iron absorption: Factors, limitations, and improvement methods. *ACS Omega*, 7(24), 20441—20456. DOI: https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01833.

Rebellato, A. P., Bussi, J., Silva, J. G., Greiner, R., Steel, C. J., & Pallone, J. A. (2017). Effect of different iron compounds on rheological and technological parameters as well as bioaccessibility of minerals in whole wheat bread. *Food Research International*, 94, 65—71. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.01.016.

Rebellato, A. P., Castro Lima, J., Silva, J. G. S., Steel, C. J., & Lima Pallone, J. A. (2017). Mineral bioaccessibility in French breads fortified with different forms of iron and its effects on rheological and technological parameters. *Journal of Cereal Science*, 74, 56—63. DOI:10.1016/j.jcs.2017.01.020.

Riemer, J., Hoepken, H. H., Czerwinska, H., Robinson, S. R., & Dringen, R. (2004). Colorimetric ferrozine-based assay for the quantitation of iron in cultured cells. *Analytical Biochemistry*, 331(2), 370—375. DOI:10.1016/j.ab.2004.03.049.

Roemhild, K., von Maltzahn, F., Weiskirchen, R., Knüchel, R., von Stillfried, S., & Lammers, T. (2021). Iron metabolism: Pathophysiology and pharmacology. *Trends in Pharmacological Sciences*, 42(8), 640—656. DOI: https://doi.org/10.1016/j.tips.2021.05.001.

Salavatifar, M., Khosravi-Darani, K. (2024). Investigation of the simulated microgravity impact on heavy metal biosorption by *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Sci. Nutr*., 12(5):3642—3652. DOI: 10.1002/fsn3.4034. PMID: 38726446; PMCID: PMC11077246.

Savastru, E., Bulgariu, D., Zamfir, C.-I., & Bulgariu, L. (2022). Application of *Saccharomyces cerevisiae* in the biosorption of Co(II), Zn(II), and Cu(II) ions from aqueous media. *Water*, 14(6), 976. DOI: https://doi.org/10.3390/w14060976.

Siddique, S., Rovina, K., Al Azad, S., Naher, L., Suryani, S., & Chaikaew, P. (2015). Heavy metal contaminants removal from wastewater using the potential filamentous fungi biomass: A review. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*, 7, 384—393. DOI: 10.4172/1948-5948.1000243.

Sieber, A., Jelic, L. R., Kremser, K., & Guebitz, G. M. (2024). Spent brewer's yeast as a selective biosorbent for metal recovery from polymetallic waste streams. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 12, 1345112. DOI: https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1345112.

Shin, Y. M., Kwon, T. H., Kim, K. S., Chae, K. S., Kim, D. H., Kim, J. H., & Yang, M. S. (2001). Enhanced iron uptake of *Saccharomyces cerevisiae* by heterologous expression of a tadpole ferritin gene. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(5), 2261—2266.

Smith, G. L., Reutovich, A. A., Srivastava, A. K., Reichard, R. E., Welsh, C. H., Melman, A., & Bou-Abdallah, F. (2021). Complexation of ferrous ions by ferrozine, 2,2′-bipyridine and 1,10-phenanthroline: Implication for the quantification of iron in biological systems. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 220, 111460. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2021.1114.

Stehlik-Tomas, V., Grba, S., Stanzer, D., Vahčić, N., & Gulan Zetić, V. (2003). Uptake of iron by yeast cells and its impact on biomass production. *Acta Alimentaria*, 32(3), 279—287. DOI: https://doi.org/10.1556/AAlim.32.2003.3.8.

Stoll, A., & Duncan, J. R. (1996). Enhanced heavy metal removal from wastewater by viable, glucose-pretreated *Saccharomyces cerevisiae* cells. *Biotechnology Letters*, 18, 1209—1212.

Sun, J., Xu, S., Du, Y., Yu, K., Jiang, Y., Weng, H., & Yuan, W. (2022). Accumulation and enrichment of trace elements by yeast cells and their applications: A critical review. *Microorganisms*, 10(9), 1746. DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms10091746.

Tafazzoli, K., Ghavami, M., & Khosravi-Darani, K. (2024). Production of iron-enriched *Saccharomyces boulardii*: Impact of process variables. *Scientific Reports*, 14(1), 4844. DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-024-55433-7.

Tamarit, J., Irazusta, V., Moreno-Cermeño, A., & Ros, J. (2006). Colorimetric assay for the quantitation of iron in yeast. *Analytical Biochemistry*, 351(1), 149—151. DOI: 10.1016/j.ab.2005.12.001.

The global health observatory. Anaemia in women and children. Взято з https://www.who.int/data/gho/data/themes/topics/anaemia_in_women_and_Children.

Wang, Z., Zhang, J., Su, T., Guan, Z., & Ji, M. (2011). Screening of iron- and zinc-enriched yeast strain and optimization of cultivation conditions. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 41(3), 278—286. DOI: 10.1080/10826068.2010.539656.

Yang, J., Li, Q., Feng, Y., & Zeng, Y. (2023). Iron deficiency and iron deficiency anemia: Potential risk factors in bone loss. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(8), 6891. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms24086891.

Zhang, X.-G., Wang, N., Ma, G.-D., Liu, Z.-Y., Wei, G.-X., & Liu, W.-J. (2021). Preparation of S-iron-enriched yeast using siderophores and its effect on iron deficiency anemia in rats. *Food Chemistry*, 365, 130508. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.13050.