

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
«ДНІПРОВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА»**



**Навчально-науковий інститут природокористування  
Кафедра екології та технологій захисту навколишнього середовища**

І. І. Клімкіна, В. В. Федотов

**БІОТЕХНОЛОГІЇ В ЕКОЛОГІЇ  
МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

до виконання лабораторних робіт для студентів спеціальностей 091  
«Біологія», 101 «Екологія» та 183 «Технології захисту  
навколишнього середовища»

Дніпро  
НТУ «ДП»  
2020

Клімкіна, І.І. Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт з дисципліни «Біотехнології в екології» для студентів спеціальностей 091 «Біологія», 101 «Екологія» та 183 «Технології захисту навколишнього середовища» [Текст] / І. І. Клімкіна, В. В. Федотов; НТУ «Дніпровська політехніка». – Дніпро: НТУ «ДП», 2020. – 52 с.

Автори:

І.І. Клімкіна, канд. біол. наук, доц.;

В.В. Федотов, асист.

Затверджено методичними комісіями зі спеціальностей 091 «Біологія» (протокол №2 від 10.03.2020 р.), 101 «Екологія» (протокол №2 від 10.03.2020 р.) та 183 «Технології захисту навколишнього середовища» (протокол №2 від 10.03.2020 р.) за поданням кафедри екології та технологій захисту навколишнього середовища (протокол № 8 від «17» лютого 2020 р.).

У методичних рекомендаціях подано стислий огляд теоретичного матеріалу, перелік відповідних лабораторних робіт, контрольних завдань, питання для самоконтролю, довідковий матеріал у вигляді схем, рисунків, таблиць, список рекомендованої літератури, глосарій основних термінів. Метою методичних рекомендацій є закріплення теоретичних знань з лекційного курсу, а також набуття практичних навичок з даної дисципліни.

Проведення лабораторних робіт допоможе студентам у розумінні екологічної спрямованості біотехнологій в різних галузях народного господарства, а також доцільності використання біотехнологічних методів в екології та охороні довкілля.

Відповідальний за випуск завідувач кафедри екології та технологій захисту навколишнього середовища, д-р техн. наук, проф. А.В. Павличенко

## ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт з дисципліни «Біотехнології в екології» призначаються студентам спеціальностей 091 «Біологія», 101 «Екологія» та 183 «Технології захисту навколишнього середовища».

Методичні рекомендації включають лабораторну роботу, текст якої викладено за типовою структурною схемою – тема, мета роботи, подання теоретичних положень за темою, завдання для самостійного виконання та питання для самоконтролю.

У результаті вивчення курсу студенти повинні:

- *знати* основні параметри біотехнологій і вміти їх застосовувати для вирішення природоохоронних задач; біологічні продуценти, що відносяться до біотехнології та їх роль у захисті навколишнього середовища; обґрунтовувати та використовувати біотехнології для захисту об'єктів довкілля; оволодіти основними методами та способами культивування біотехнологічних об'єктів.

Вивчення даної дисципліни надасть можливість студентам опанувати наступні дисциплінарні результати навчання:

- *вміти* проводити вибір біотехнологічних методів захисту довкілля;  
- здійснювати пошук новітніх біотехнологічних й організаційних рішень, спрямованих на впровадження у виробництво інноваційних природоохоронних розробок і сучасного обладнання;

- визначати напрямки вдосконалення існуючих технологій вилучення корисних компонентів з промислових відходів біотехнологічними методами

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1

**Тема: правила техніки безпеки у біотехнологічній лабораторії. Лабораторний посуд.**

**Мета роботи:** ознайомитися із загальними правилами техніки безпеки при роботі у біотехнологічній лабораторії, а також із різновидами лабораторного посуду.

**Матеріали й обладнання:** плакати, фотоматеріали, конспекти лекцій, лабораторний посуд та обладнання.

### *Правила техніки безпеки при роботі у біотехнологічній лабораторії*

1. Лабораторні роботи необхідно виконувати у спецодязі (халаті), захищаючи одяг та шкіру від попадання роз`ідаючих реактивів та обсіменіння мікроорганізмами.

2. Кожний студент повинен працювати на закріпленому за ним робочому місці.

3. Робоче місце слід підтримувати у чистоті.

4. Забороняється виконувати лабораторні роботи без присутності викладача або лаборанта.

5. До виконання кожної роботи студенти можуть приступити тільки після отримання інструктажу з техніки безпеки та дозволу викладача.

6. Приступаючи до роботи, необхідно ознайомитися з методами та етапами проведення роботи, правилами її безпечного виконання.

7. Дослід необхідно проводити в точній відповідності з його описом у методичних рекомендаціях, особливо дотримуватися черги додавання реактивів.

8. Для виконання досліду користуватися тільки чистим, сухим, за потреби – стерильним лабораторним посудом; для відмірювання кожного реактиву потрібно мати мірний посуд (піпетку, бюретку, мензурку, мірний циліндр або мірний стакан); не слід виливати надлишок налитого у пробірку реактиву назад у склянку, щоб не забруднити реактив.

9. Якщо у ході проведення експерименту потрібне нагрівання реакційної суміші, то треба дотримуватися передбаченого способу нагрівання: на водяній бані, на електроплитці та ін.

10. Пролиті на підлогу та стіл хімічні речовини знешкоджувати і прибирати під керівництвом лаборанта (викладача) відповідно до правил.

11. Виконувати роботу необхідно акуратно, сумлінно, уважно, ощадливо, бути спостережливим.

12. Після закінчення роботи слід привести в порядок своє робоче місце: помити посуд, протерти поверхню стола, закрити водопровідні крани, виключити електричні прилади.

### *Правила техніки безпеки при роботі з біооб`єктами*

1. У лабораторії забороняється приймати їжу, пити воду.

2. Роботу з біологічним матеріалом проводити тільки за допомогою спеціальних інструментів: петлі, шпателя і т.д..

3. При випадковому потраплянні біологічного матеріалу (особливо мікроорганізмів) на стіл, руки, потрібно провести обробку дезінфекційним розчином (наприклад, хлораміном).

4. Після роботи необхідно ретельно вимити руки з використанням дезінфекційних засобів (детергентів).

5. Роботу з мікроорганізмами проводити, дотримуючись правил та умов стерильності.

### *Лабораторний посуд*

Всі роботи у лабораторіях здійснюються з використанням різного хімічного посуду або приладів. Набір посуду (скляного, фарфорового або з пластмас) залежить від характеру роботи, що проводиться. Скляний хімічний посуд розділяється на три основних групи:

- посуд загального призначення;
- посуд спеціального призначення;
- мірний посуд.

До *посуду загального призначення* відносяться: пробірки, хімічні лійки, хімічні стакани, плоскодонні (круглі) колби, конічні колби (Ерленмейєра), крапельниці, скляні холодильники.

*Посуд спеціального призначення* застосовується в особливих дослідних роботах, органічних та неорганічних синтезах. До нього відносяться, наприклад, чашка Петрі, качалочна колба, імунологічні планшети, фарфорова ступка з товчачиком та ін. (рис. 1.1).



**Рис. 1.1. Лабораторний посуд:**

А – загального призначення; Б – спеціального призначення

*Мірний посуд* застосовується для відмірювання об'ємів рідин: мірні циліндри, піпетки, бюретки, мірні колби та стакани.

### **Завдання:**

1. Запишіть у зошит правила техніки безпеки при роботі у біотехнологічній лабораторії.
2. Надайте інформацію з малюнками про усі види лабораторного посуду, що були розглянуті на лабораторній роботі.
3. Наведіть особливості роботи у боксах, для чого їх використовують? Опишіть правила роботи у ламінар-боксі.

### **Контрольні запитання:**

1. Назвіть види лабораторного посуду.
2. Який посуд відноситься до загального, а який має спеціальне призначення?
3. Який посуд застосовують у біотехнологічній лабораторії?
4. Які правила роботи з мікроорганізмами?
5. Назвіть особливості устаткування біотехнологічної лабораторії.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2

**Тема: Основні стадії виробництва біотехнологічної продукції. Різновиди біотехнологічних процесів.**

**Мета роботи:** ознайомитися з типовими схемами біотехнологічного виробництва та основними типами біотехнологічних процесів.

**Матеріали й обладнання:** типова схема біотехнологічного виробництва, мультимедійне забезпечення.

*Біотехнологічний процес* – це виробничий процес, у якому використовується життєдіяльність організмів або продукти їх метаболізму. Біотехнологічний процес включає три основні стадії:

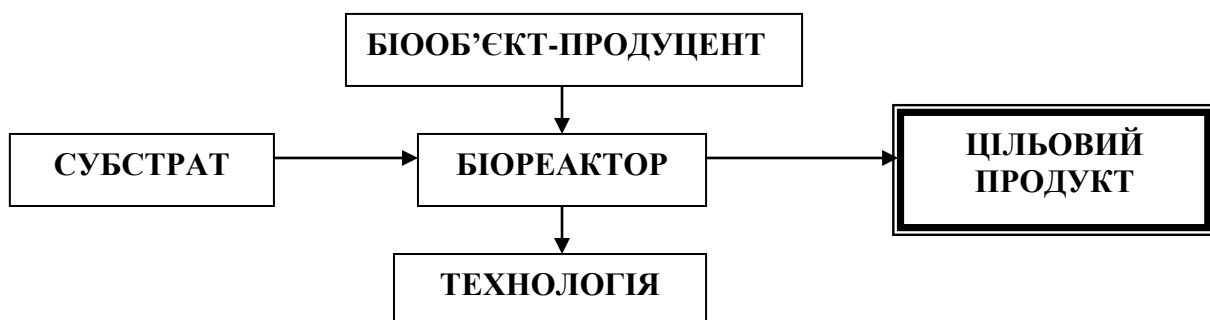
- 1 – підготовчу (підготовка біологічного об'єкту);
- 2 – культивування біооб'єкту;
- 3 – відділення, очищення та модифікація цільового продукту.

*Біотехнологічні продукти* – це речовини, що утворюються у результаті життєдіяльності живих клітин, тканин біооб'єктів у штучних умовах. Найбільш поширена *біотехнологічна продукція* являє собою біологічно активні речовини (вітаміни, ферменти, гормони, амінокислоти, білки, вуглеводи, нуклеотиди, антибіотики, стероїди, імуноглобуліни, алкалоїди, пестициди та ін.), продукти бродіння (спирти, органічні кислоти, ацетон), енергетичні речовини (біогаз, етанол, водень), рідкі метали (біометалургія), речовини харчового (фруктозо-глюкозний сироп) та кормового призначення, продукти на основі технології культури клітин – вакцини, компоненти крові, моноклональні антитіла. Приклади біотехнологічних продуктів наведені на рисунку 2.1.

Основою сучасних біотехнологічних виробництв є *мікробіологічний синтез*. Об'єкти рослинного та тваринного походження знаходять менш широке використання, ніж мікроорганізми, завдяки високим вимогам до умов культивування (значне подорожчання виробничих процесів).

Характерна особливість мікроорганізмів – їх здатність до надсинтезу, тобто надлишковому утворенню деяких продуктів обміну речовин (багатьох амінокислот, нуклеотидів, вітамінів), які перевищують потреби мікробної клітини.

Реалізація біотехнологічного процесу здійснюється за наступною принциповою схемою (рис. 2.2).



**Рис. 2.2. Блок-схема біотехнологічного процесу**



А



Б



В



Г



Д



Е

**Рис. 2.1. Продукти біотехнологічної галузі:**

А – хлібопекарська галузь, Б – кисло-молочні продукти, В – лікарські фармацевтичні препарати, Г – вітаміни, Д – біогаз, Е – садинковий матеріал

Існуючі біотехнологічні виробництва можуть відрізнятися своїми біооб'єктами-продуцентами, сировиною, кількістю виробничих стадій та технологічними режимами. Однак їх можна представити однією узагальненою типовою схемою (рис. 2.3).





**Рис. 2.3. Узагальнена схема основних стадій біотехнологічного виробництва**

Схема включає ряд стадій, в кожній з яких сировина послідовно перетворюється через проміжні продукти у кінцевий продукт.

Основною стадією біотехнологічного виробництва є власно *біотехнологічна стадія*, на якій з використанням того або іншого біологічного об'єкту-продуценту (мікроорганізмів, ізольованих клітин, тканин, ферментів чи клітинних органел), виникає утворення цільового продукту за такими технологічними процесами:

– *ферментація* – процес, який здійснюється шляхом культивування мікроорганізмів (виробництво кефіру, йогурту шляхом молочнокислого бродіння; виробництво спирту, пива – спиртовим бродінням; виробництво амінокислоти лізину, лимонної кислоти з меляси – відходів цукрового виробництва; виробництво кормового білка шляхом нарощування дріжджової біомаси);

– *біотрансформація* – процес перетворення хімічної структури речовини під впливом ферментативної активності клітин мікроорганізмів або готових ферментів. При цьому не виникає накопичення клітин мікроорганізмів, а здійснюється хімічна модифікація речовин субстрату шляхом додавання чи віднімання радикалів, гідроксильних іонів або дегідрування (виробництво стероїдних гормонів, алкалоїдів, антибіотиків);

– *біокаталіз* – хімічне перетворення речовини, що протікає з використанням ферментів-біокаталізаторів (культивування грибів шляхом ферментативного руйнування целюлозовмісних рослинних відходів, використання біосенсорів);

– *біоокиснення* – утилізація речовин-забруднювачів за участю мікроорганізмів або асоціації мікроорганізмів в аеробних умовах (початкова аеробна стадія силосування, очищення стічних вод з використанням біофільтрів);

– *метанове бродіння* – переробка органічних відходів за допомогою асоціації метаногенних мікроорганізмів в анаеробних умовах (виробництво біогазу з використанням органічних відходів);

– *біокомпостування* – це зниження кількості шкідливих органічних речовин у твердих відходах за допомогою асоціації мікроорганізмів (мікробне очищення ґрунту від нафтових забруднень);

– *біосорбція* – сорбція шкідливих домішок із газів або рідин мікроорганізмами, які закріплені на спеціальних твердих носіях (очищення стічних вод з використанням біофільтрів);

– *біодеградація* – руйнування шкідливих сполук під впливом мікроорганізмів-деструкторів (анаеробна стадія силосування, мікробне розкладання пестицидів);

– *бактеріальне вилуження* – процес переведення сполук металів, що не розчиняються у воді, за допомогою мікроорганізмів у розчинний вигляд (виділення металів із піритних руд).

Екологічні галузі застосування біотехнологічної продукції базуються на екологічній безпечності та на біосинтетичних можливостях біооб'єктів-продуцентів:

– вірусів, в медицині: розробка вакцин, біопрепаратів для створення в організмі штучного імунітету, використання рекомбінантних вакцин; в фармацевтичній промисловості: розробка діагностикумів, вакцин, векторів на основі ДНК-вмісних вірусів рослин;

– бактерій: отримання кормового білка на різних субстратах, біогазу, одержання вітамінів ( $B_2$ ,  $B_{12}$ ), гормонів, ферментів, органічних кислот;

– грибів: одержання амілолітичних, ліполітичних ферментів, вітамінів ( $\beta$ -каротину,  $D$ ,  $C$ ), отримання харчового білка, при виготовленні сирів, кисломолочної продукції; використання дріжджів для отримання етанолу, пива, вина, харчового та кормового білка тощо;

– водоростей: отримання харчових добавок, кормового білка, енергії (фотоліз води), очищення стічної води в аеротенках, очищення води за допомогою біофільтрів;

– використання найпростіших: як складова частина активного мулу при очищення водоймищ та стічних вод, в якості тест-індикаторів (рис. 2.4);



**Рис.2.4. Збудник американського трипаносомозу – *Trypanosoma cruzi***

– використання черв'яків: для одержання біогумусу (як добрива), біогумату (фітогормонів).

– одержання трансгенних рослин: покращення якості та підвищення продуктивності рослин за допомогою методів генної інженерії; одержання нових сортів та гібридів сільськогосподарських та інших рослин за допомогою методів селекції, використання культури ізольованих рослинних тканин для розмноження та оздоровлення садового матеріалу (методи клітинної інженерії);

– використання клітинних культур людини та тварин: виділення та перенесення диференційованих клітин на штучне живильне середовище *in vitro*, які стануть продуцентами фізіологічно активних речовин - гормонів росту, мукополісахаридів, колагену, кортикостероїдів, білків, ферментів та ін.; одержання моноклональних антитіл, які синтезуються гібридомними лімфоїдними клітинами (метод клітинної інженерії).

– клонування та експресія генів в різних організмах.

Якщо біооб'єктом є визначений штам мікроорганізму, то *перша стадія* (підготовча) складається з методів одержання спочатку в лабораторних умовах (в чашках Петрі або пробірках) накопичувальної культури шляхом виділення клітин мікроорганізму із невеликих проб будь-якого субстрату (грунту, водного середовища, мулу, повітря), а далі – чистої культури (одного виду клітин). Малі розміри мікроорганізмів дають можливість в умовах однієї пробірки одержати чисту культуру та вивчити особливості передачі спадкових ознак. Ріст колоній біопродуценту вітаміну В<sub>2</sub> можна розглянути на рис. 2.5.



**Рис. 2.5. Ріст колоній на різних середовищах**

Шляхом простого підбору важко отримати високоактивні продуценти. Тому існують методи зміни природи живого організму у заданому напрямку. *Основними методами, які використовуються при підборі біооб'єкту-продуценту є методи селекції* (спрямований відбір мутантів, тобто організмів зі зміненою спадковою інформацією – штучний відбір особин з необхідними ознаками; індукований мутагенез, відбір клонів); *методи генної інженерії in vivo та in vitro* (введення у геном реципієнтної клітини одного або декількох чужорідних генів, або утворення в геномі нових типів регуляторних зв'язків); *методи клітинної інженерії* (гібридизація соматичних клітин; одержання гібридомних клітин – метод отримання моноклональних антитіл; у рослинництві – метод клонального мікророзмноження з використанням ізольованих клітин, тканин, які бувають представленими у вигляді калусних та рідко пухлинних тканин; *in vitro* – метод ізольованих органів – тканинних зрізів та ін.)

Стадія культивування мікроорганізмів у біореакторі певного типу за заданою технологією передбачає підбір субстрату для забезпечення клітин організму комплексом розчинених живильних речовин (органічних, неорганічних), що йому необхідні, і використовуються для життєдіяльності (росту і розмноження, тобто конструктивних та енергетичних процесів).

Способи заключної *стадії біотехнологічного процесу* залежать від хімічної природи цільового продукту, знаходження його (у клітині або у культуральній рідині) та якщо продуктом є сама клітинна біомаса.

При культивуванні біооб'єктів в багатьох біотехнологічних процесах утворюються двофазні системи, в яких тверда фаза – маса клітин продукту біосинтезу (біомаса), а рідка – рідина з розчиненими залишками живильних речовин та продуктами біосинтезу, в якій проходив процес культивування біомаси (культуральна рідина).

*Метами відділення біомаси від культуральної рідини* є сепарування та центрифугування; фільтрація; осадження за допомогою флокулянтів; дистиляція; сублімація; зневоднення (випаровування, сушіння); ліофілізація; заморожування; осадження шляхом змін розчинності речовини; кристалізація; сорбція; екстракція; ультрафільтрація на мембранних фільтрах.

Важливим та відповідальним етапом заключної стадії є модифікація (змінення) продукту для його подальшого використання людиною, а також зберігання продукту. Модифікація – необхідний етап в отриманні ряду ферментів, гормонів, препаратів медичного призначення. Мова йде про перебудову сполук тваринного, рослинного або мікробного походження з метою надання їм специфічних властивостей, необхідних людині. Наприклад, у бичачого інсуліну “відстригають” амінокислотні залишки, після чого він становиться ідентичним людському гормону.

Збереження клітин мікроорганізмів без втрати цінних якісних властивостей є можливим, якщо гальмувати їх життєво важливі процеси, в тому числі, і генетичні зміни (клітини у стані, який схожий на анабіоз).

Методи збереження (консервації) біопродукції: ліофілізація (зневоднення під вакуумом після заморожування); повітряне сушіння; збереження у вигляді спор; кріоконсервація (глибоке заморожування у рідкому азоті при  $-196^{\circ}\text{C}$ ), що запобігає змінам генофонду; комбіновані методи (часткове сушіння з подальшою ліофілізацією).

Одним із ефективних методів збереження готової продукції, який широко застосовується у біотехнологічному виробництві є вакуум-сушильна установка (рис. 2.6).



**Рис. 2.6. Вакуум-сушильна установка**

**Завдання:**

1. Надайте у зошиті узагальнені схеми основних стадій біотехнологічного виробництва. Наведіть блок-схеми виробництва пробіотиків, молочно-кислої продукції (йогурт, кефір, ряжанка, кисломолочний сир тощо), антибіотику, вакцини.

2. Заповніть таблицю основних типів біотехнологічних процесів:

| Біотехнологічний процес | Коротка характеристика | Приклади впровадження біотехнологічного процесу |
|-------------------------|------------------------|---|
| Ферментація             |                        |   |
| Біотрансформація        |                        |   |
| Біокаталіз              |                        |   |
| Біоокиснення            |                        |   |
| Метанове бродіння       |                        |   |
| Біокомпостування        |                        |   |
| Біосорбція              |                        |   |
| Біодеградація           |                        |   |
| Бактеріальне вилуження  |                        |   |

3. Складіть схему: **біопродуцент – продукт.**

**Наприклад:** *p. Lactobacillus* → йогурт, пробіотики, квашені (ферментовані) продукти.

***Контрольні запитання:***

- Дайте визначення поняттю «біотехнологічні продукти».
- Назвіть три основні стадії біотехнологічного процесу.
- У чому полягає здатність мікроорганізмів до надсинтезу?
- Назвіть основні біопродуценти.
- Назвіть методи, які використовуються при підборі біопродуценту для виробництва.
- Назвіть методи відділення біомаси від культуральної рідини.
- Дайте визначення модифікації біотехнологічного продукту.
- Назвіть методи консервації біопродукції.

### ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3

**Тема:** Загальна характеристика продуцентів, що застосовуються у біотехнології. Віруси і бактеріофаги як біопродуценти біотехнологічних виробництв.

**Мета роботи:** ознайомитися з різними видами мікроорганізмів, які беруть участь у біотехнологічних процесах та освоїти застосування вірусів і бактеріофагів у БТ-виробництві.

**Матеріали й обладнання:** мікроскоп, препарувальна голка, предметні і покривні скельця, пінцет, піпетка, скальпель, таблиці, рисунки, фотокартки; суспензія добової культури дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, готові фіксовані мікробіологічні препарати бактерій.

Першим етапом будь-якого біотехнологічного процесу є підбір *біоб'єктів-продуцентів*, які знаходяться на різних рівнях організації живої матерії. Це об'єкти організаційного рівня: віруси, фаги, бактерії, гриби (мікро- і макроміцети), водорості, протозойні організми (найпростіші), черв'яки, рослини, тварини, людина або надорганізмений: їх тканини, клітини, структурні компоненти клітин (біомолекули, органели, продукти метаболізму) (див. рис.3.1).

Екологічні галузі застосування біотехнологічної продукції базуються на екологічній безпечності та на біосинтетичних можливостях біоб'єктів-продуцентів:

– вірусів, в медицині: розробка вакцин, біопрепаратів для створення в організмі штучного імунітету, використання рекомбінантних вакцин; в *фармацевтичній промисловості:* розробка діагностикумів, вакцин, векторів на основі ДНК-вмісних вірусів рослин;

– бактерій: отримання кормового білка на різних субстратах, біогазу, одержання вітамінів ( $B_2$ ,  $B_{12}$ ), гормонів, ферментів, органічних кислот;

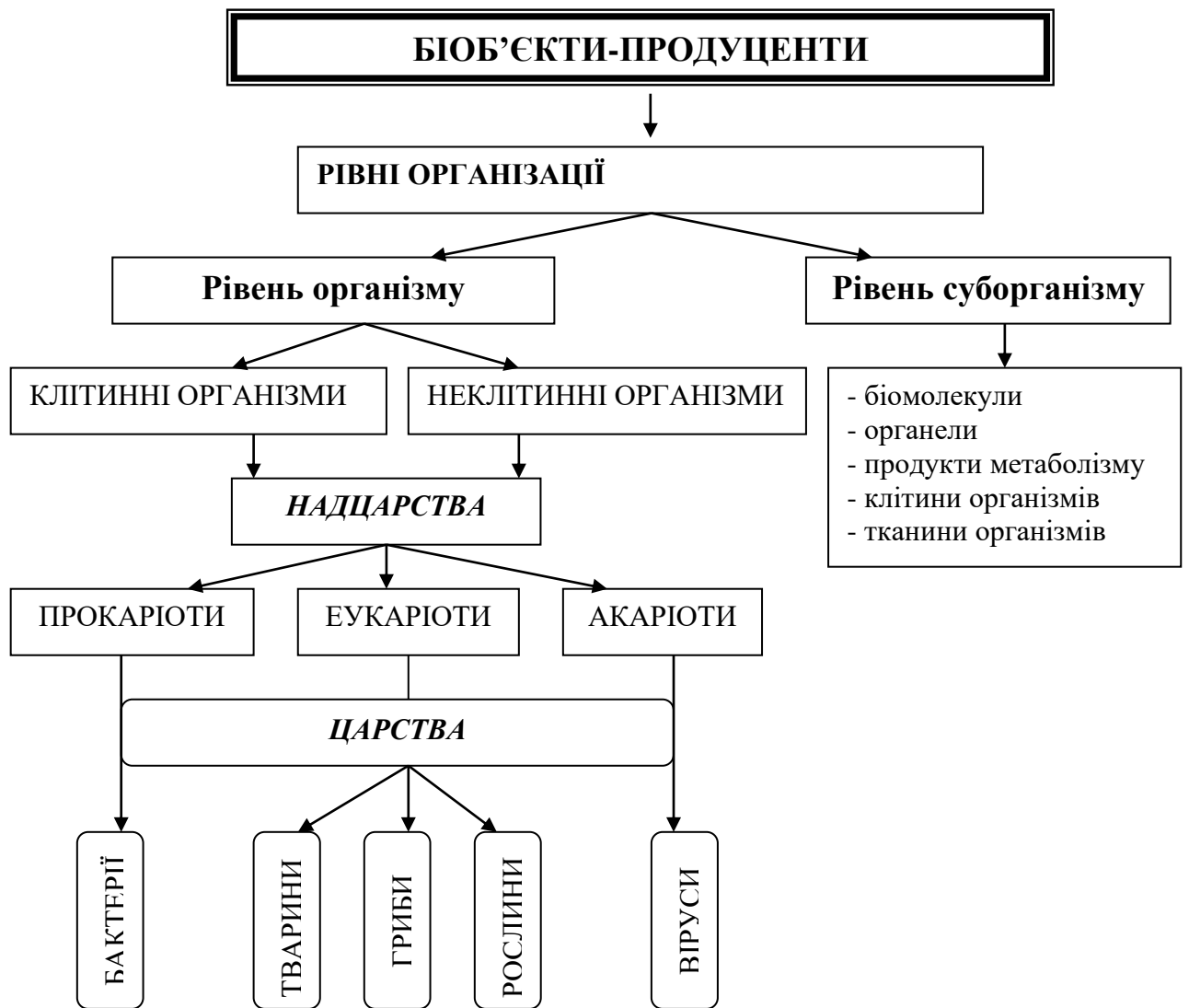
– грибів: одержання амілолітичних, ліполітичних ферментів, вітамінів ( $\beta$ -каротину,  $D$ ,  $C$ ), отримання харчового білка, при виготовленні сирів, кисломолочної продукції; використання дріжджів для отримання етанолу, пива, вина, харчового та кормового білка тощо;

– водоростей: отримання харчових добавок, кормового білка, енергії (фотоліз води), очищення стічної води в аеротенках, очищення води за допомогою біофільтрів;

– використання найпростіших: як складова частина активного мулу при очищення водоймищ та стічних вод, в якості тест-індикаторів;

– використання черв'яків: для одержання біогумусу (як добрива), біогумату (фітогормонів).

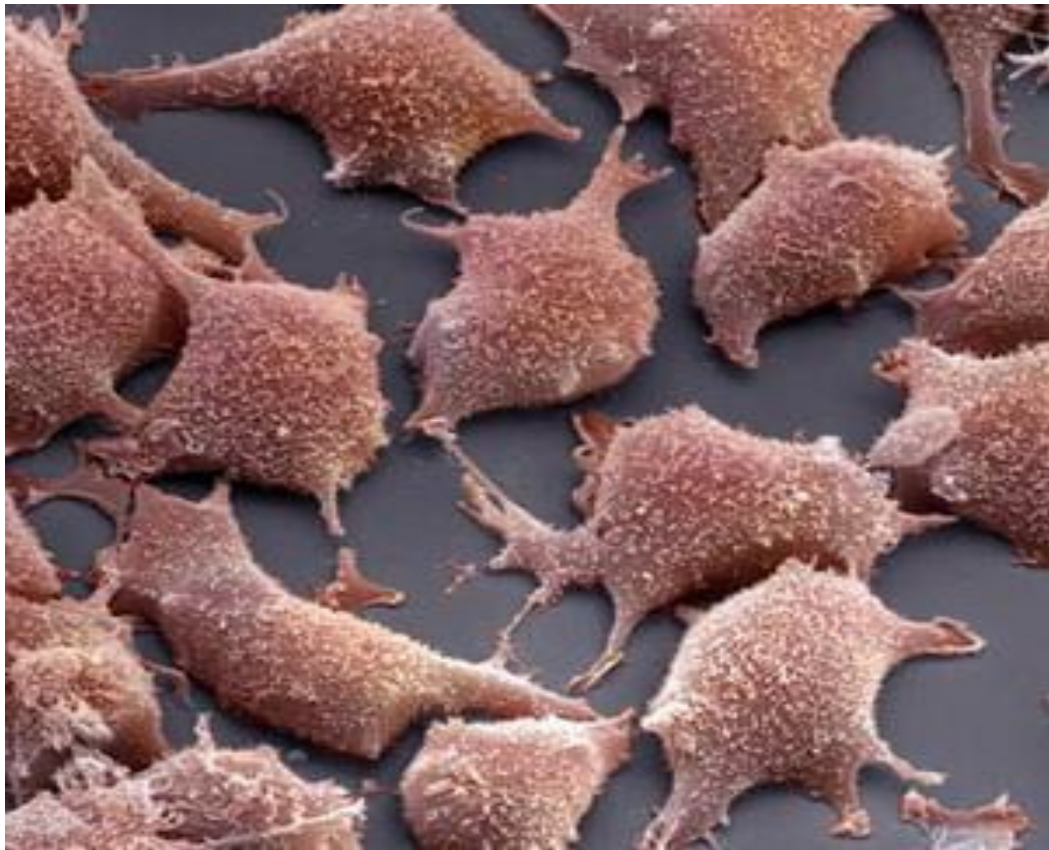




**Рис. 3.1. Характеристика біопродуцентів за рівнями організації**

– одержання трансгенних рослин: покращення якості та підвищення продуктивності рослин за допомогою методів генної інженерії; одержання нових сортів та гібридів сільськогосподарських та інших рослин за допомогою методів селекції, використання культури ізольованих рослинних тканин для розмноження та оздоровлення садового матеріалу (методи клітинної інженерії);

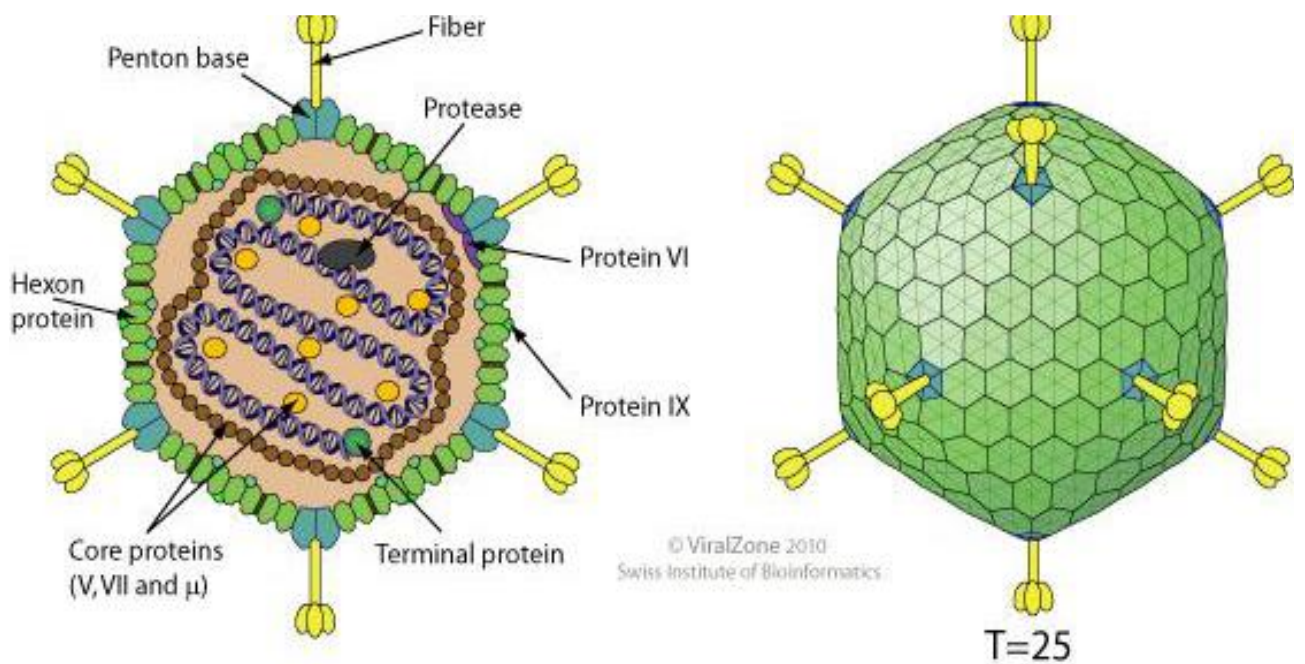
– використання клітинних культур людини та тварин (рис. 3.2): виділення та перенесення диференційованих клітин на штучне живильне середовище *in vitro*, які стануть продуцентами фізіологічно активних речовин - гормонів росту, мукополісахаридів, колагену, кортикостероїдів, білків, ферментів та ін.; одержання моноклональних антитіл, які синтезуються гібридомними лімфоїдними клітинами (метод клітинної інженерії).



**Рис. 3.2. Культура клітин тканин**

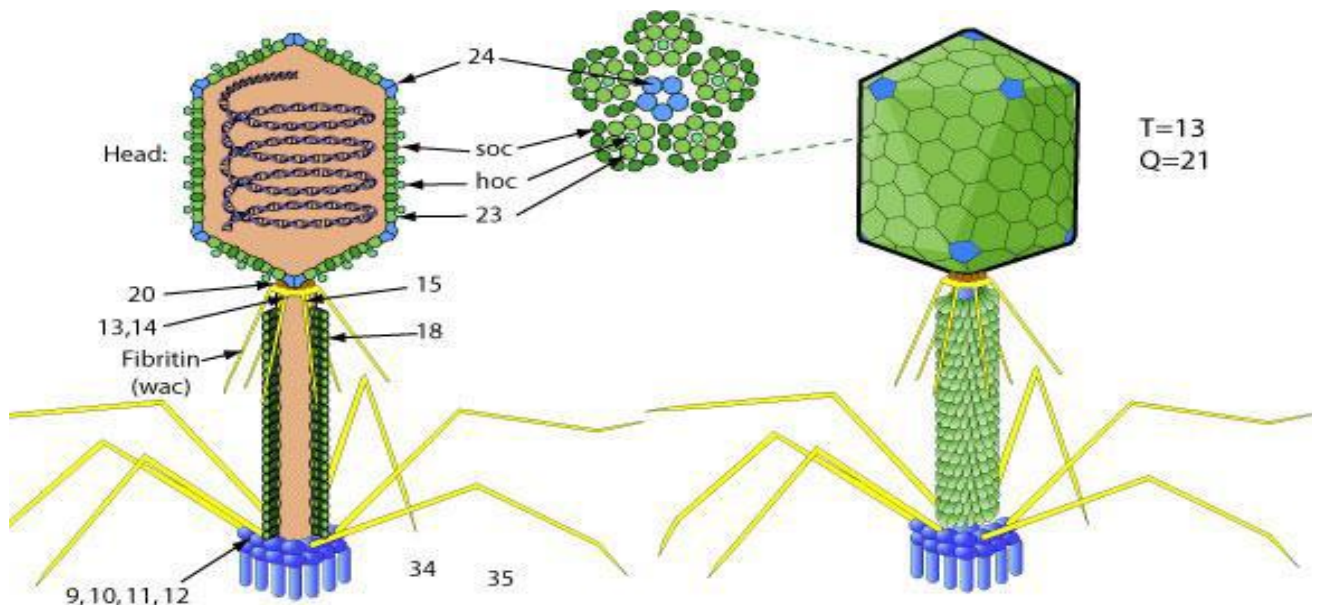
До акаріотичних організмів (неклітинні форми життя) – наноорганізмів відносяться *віруси*, *бактеріофаги*. Основою їх структурної будови є нуклеїнові кислоти (ДНК або РНК) та білки, які не пов'язані між собою ковалентними зв'язками.

*Віруси* (рис 3.3) – біоб'єкти, які не мають клітинної будови, містять тільки один тип нуклеїнових кислот: або молекулу РНК – рибовіруси, або молекулу ДНК – дезоксивіруси ( $\approx 10^3$  нуклеотидів або пар нуклеотидів). Віруси є облігатними паразитами та характеризуються дуже малими розмірами. Їх діаметр вимірюється нанометрами та дорівнює 20-300 нм. Нуклеїнові кислоти у вірусній частинці існують у різних формах: одноланцюгова або лінійна молекула, дволанцюгова кільцева або лінійна молекула, чи окремі фрагменти молекули нуклеїнової кислоти. Молекули нуклеїнових кислот знаходяться у білковій оболонці, яка має назву – *капсид*. Віруси не здатні до росту та бінарного поділу. Позаклітинна форма вірусу має назву *віріон*. Розмноження вірусу (*репродукція*) – це чіткий цикл, який призводить до синтезу нових молекул вірусних білків та великої кількості копій вірусної ДНК, а потім до формування зрілих вірусних часток. Саме після проникнення вірусів у клітини живого організму завдяки мобілізації метаболічних систем клітини-хазяїна утворюється велика кількість копій вірусних геномів, які пригнічують біосинтез клітин та примушують їх утворювати власні білки і нуклеїнові кислоти.



**Рис. 3.3. Схема будови віріона аденовірусів**

*Бактеріофаги* – облігатні паразити мікроорганізмів (віруси бактерій). Звичайно бактеріофаги мають багатогранну призматичну голівку та відросток (розміри 60-200 нм). Вони відносяться до дезоксивірусів: усередині голівки є одна чи дві нитки ДНК. Через відросток ДНК із голівки бактеріофагу переходить у клітину мікроорганізму. Морфологічні особливості елементів сформованих вірусних часток віріонів з родини міовірусів зображено на рис. 3.4.



**Рис. 3.4. Схематична будова віріона фага з родини міовірусів**

*Бактеріофаги* використовують для діагностики, профілактики та лікування бактеріальних інфекцій: стафілококкової, стрептококкової, дизентерійної та ін. Механізм дії фагів – лізис клітин бактерій

### Завдання:

1. Заповніть таблицю Біопродуценти у біотехнології:

| Організми біопродуценти (на таксономічному рівні царства) | Загальна характеристика | Використання у біотехнологіях |
|---|-------------------------|-------------------------------|
|   |                         |                               |

2. Замалюйте і підпишіть у зошиті рисунки *Форми вірусів і Структура вібріону та бактеріофагу*.

3. Наведіть характеристику та особливості вірусу SARS-CoV-2, що викликає коронавірусну інфекцію COVID-19.

4. Надайте коротку інформацію про біотехнології виготовлення вакцин проти коронавірусної інфекції COVID-19.

### Контрольні запитання:

- Назвіть біопродуценти на рівнях організму та суборганізму.
- Поняття про мікроорганізми, їх значення як продуцентів у біотехнології.
- Біотехнологічні переваги мікроорганізмів-продуцентів різних біотехнологій у екології.
- Значення мікроорганізмів для розвитку біотехнологічних наук.
- Шкода, яку наносять мікроорганізми.
- Використання мікроорганізмів для здобуття екологічно безпечної продукції для народного господарства.
- Технологія одержання трансгенних рослин.
- Використання клітинних культур людини та тварин.
- Загальна характеристика вірусів.
- Загальна характеристика бактеріофагів.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4

**Тема: Гриби, водорості та лишайники як біопродуценти біотехнологічних процесів.**

**Мета роботи:** ознайомитись з біологічними особливостями, різновидами та використанням грибів, водоростей і лишайників у біотехнологічних процесах у якості продуцентів.

**Матеріали й обладнання:** мікроскоп МІКМЕД-1, препарувальна голка, предметні і покривні скельця, пінцет, піпетка, скальпель, таблиці, рисунки, фотокартки; суспензія добової культури дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, цвілеві гриби (*Mucor*; *Penicillium*; *Aspergillus*), наочні препарати сухих та законсервованих шапкових грибів (*Pleurotus ostreatus*), водорості у пробах річної води (*Micrococcus*, *Nostoc*, *Oscillatoria*, *Chara*), живі лишайники.

*Гриби (Fungi)* – це велика група еукаріотичних, гетеротрофних, безхлорофільних організмів. Вегетативне тіло грибів складається з системи розгалужених тонких ниток – *гіф*, які утворюють *грибницю (міцелій)*. За структурою міцелію гриби поділяють на вищі та нижчі. У вищих грибів міцелій – багатоклітинний, а у нижчих – неклітинний, багатоядерний. У клітинному міцелії чітко проглядаються перегородки (септи). Основною речовиною клітинної стінки грибів є хітин. Ядер у грибних клітинах може бути одне, два або багато, пластиди відсутні, запасними речовинами у цитоплазмі є жири, глікоген, волютин. Деякі гриби здатні синтезувати отруйні речовини (мускарин, фаллоїдин). Гриби розмножуються вегетативним, нестатевим та статевим шляхом. Вегетативне розмноження відбувається частинами міцелію. Нестатеве – за допомогою спеціальних спор або конідій.

Гриби мають схожість з рослинними та тваринними організмами. З тваринами гриби поєднує наявність хітину у клітинній стінці, запасний вуглевод глікоген, відсутність пластид, гетеротрофне живлення, потреба у вітамінах. Рисами схожості з рослинами є здатність не необмеженого росту, живлення шляхом всмоктування речовин, нерухомість, розмноження спорами, присутність вакуолей.

До мікроскопічних грибів – мікроміцетів – відносяться дріжджі, цвілеві гриби (мукор, пеніцил, аспергил, дріжджі та ін.) (рис. 4.1, А-Г).

Використання мікроскопічних грибів дозволяє одержувати амілолітичні, ліполітичні ферменти, вітаміни (β-каротин, вітаміни групи В), харчовий білок, антибіотики. Вони є активними продуцентами ферментів для виготовлення сирів, кисломолочної продукції. В отриманні етанолу, пива, вина, харчового та кормового білка широко застосовуються дріжджі.

Макроскопічні гриби (рис. 4.1, Д) – макроміцети (базидіоміцети: глива, печериця, білий гриб, лисички та ін.) – є продуцентами харчового білка. В останні роки була з'ясована бактерицидна, протипухлинна і, навіть, антиснідова активність вищих базидіоміцетів.

Гриби здатні виділяти у навколишнє середовище ферменти і шляхом абсорбції поглинати живильні речовини, продукти ферментативного гідролізу природних біополімерів та інших розчинних сполук. Такий спосіб живлення дозволяє віднести ґрунтових представників Царства *Fungi* у найбільшу екологічну групу, яка бере участь в мінералізації органічних речовин в екосистемах, тобто колообігу речовин.

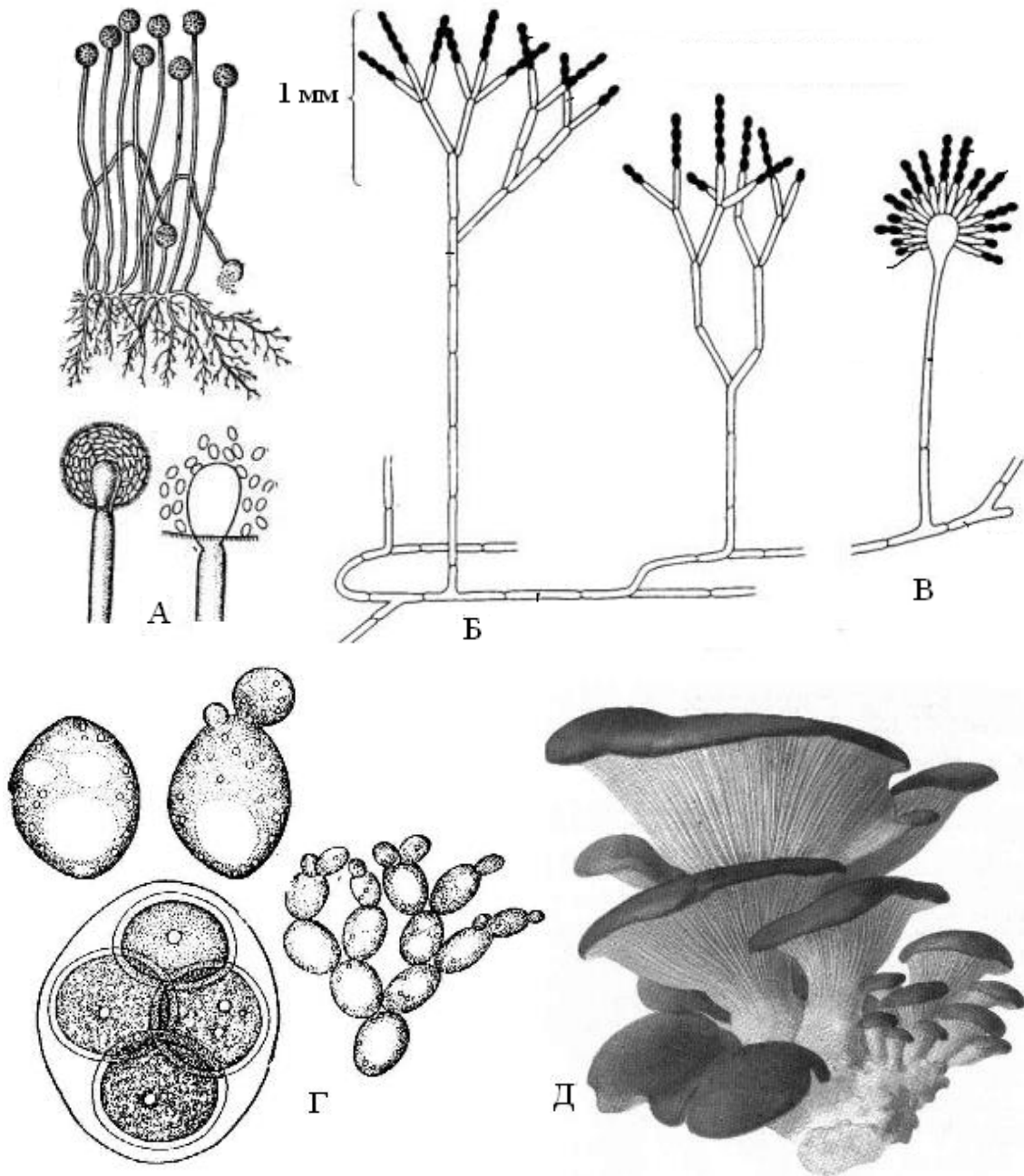


Рис. 4.1. Мікроміцети та макроміцети:

А – міцелій та спорангієносці зі спорами гриба *Mucor*;

Б – мікроскопічна китиця конідієносця *Penicillium*;

В – мікрофоторгафія *Aspergillus niger*;

Г – клітини дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* окремі та ті, що брунькуються;

Д – Глива звичайна *Pleurotus ostreatus*.

*Водорості (Algae)* – це нижчі таломні рослини, первинним середовищем існування яких є вода. Вони включають десять самостійних відділів: зелені, жовто-зелені, золотисті, діатомові, бурі, червоні, пірофітові, евгленові, харові, синьо-зелені. Синьо-зелені або ціанобактерії – водорості Надцарства Procariota, інші відділи водоростей відносяться до Надцарства Eucariotae. До їх складу входять пігментами хлорофіл *a* і *b*, каротиноїди; резервним вуглеводом є крохмаль. Деякі види мають джгутики для переміщення. Нестатеве розмноження відбувається зооспорами, вегетативно, поділом навпіл або брунькуванням. Статевий процес відбувається у формі гологамії та мерогамії.

За типами водорості підрозділяються на активно рухомі одноклітинні та колоніальні, нерухомі одноклітинні та багатоклітинні, нитчасті, пластинчасті і сифонові (мають багатоядерний талом) (рис. 4.2).

Фотосинтезуючі клітини водоростей, поглинаючи енергію видимого світла, перетворюють її в хімічну енергію фосфатних зв'язків АТФ. При цьому фіксуються карбон, нітроген, фосфор і включаються до складних молекул органічних речовин (накопичується біомаса).

На основі водоростей отримують харчові добавки, кормовий білок, мікроелементи (йод, бром), ферменти, органічні кислоти, агар-агар - складний полісахарид, здатний до гелеутворення, який застосовують для ущільнення живильних середовищ у мікробіології. За допомогою водоростей можливе отримання біомаси та біологічно активних речовин у системах життєзабезпечення космічних кораблів, енергії (фотоліз води), очищення стічної води в аеротенках, очищення води за допомогою біофільтрів тощо.



**Рис. 4.2. Види водоростей**

*Лишайники (Lichenes)* є потенційними біооб'єктами для біотехнології. Це симбіотичні організми, які утворені грибом – гетеротрофним мікобіонтом (переважно аскоміцетами, іноді базидіоміцетами) та автотрофним фікобіонтом – водоростями (частіше зеленими, рідко ціанобактеріями).

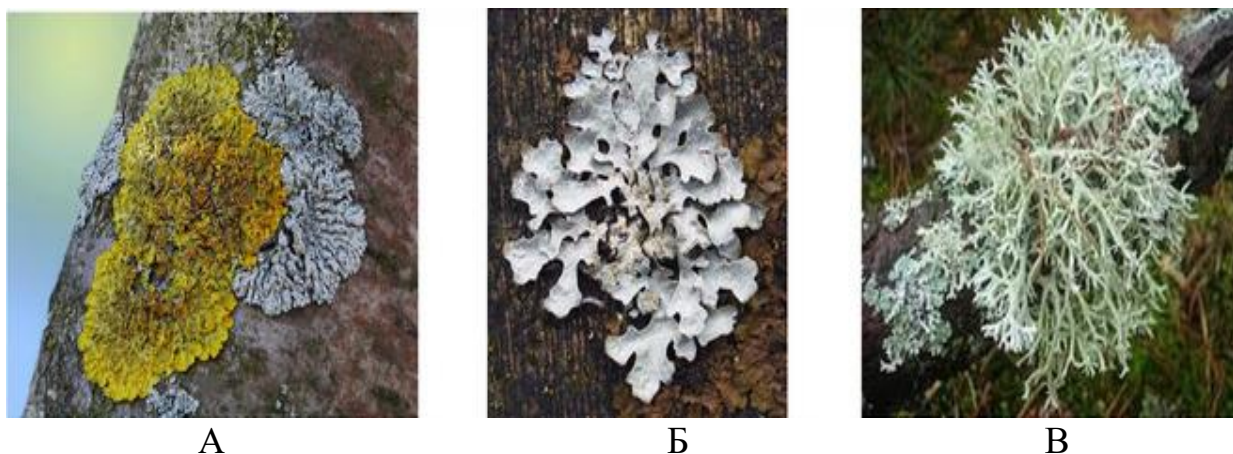
Веgetативне тіло лишайників – це талом (слань). Гіфи гриба сплітаються з водоростю, утворюючи міцну структуру. За морфологічною ознакою виділяють три основні групи лишайників:

– накипні або коркові – тіло у вигляді накипі, яка вкриває субстрат та тісно зростається з ним усією поверхнею (рис. 4.3, А), що практично невіддільна від нього; накипні лишайники складають біля 80% всіх лишайників;

– листові – тіло у вигляді листовидних пластинок, які прикріплені до субстрату пучками гіф (ніжка) та легко відділяються від нього (рис. 4.3, В);

– кущові – талом у вигляді більш або менш розгалужених кущів довжиною до 15 см (можуть досягати і 7-8 м – тайговий лишайник уснея), які підіймаються від субстрату (грунту) або звисають з гілок. У кущових лишайників талом є циліндричним із “серцевиною” у центрі (рис. 4.3, Б).

Розмноження лишайників переважно вегетативне: фрагментами талому. Ростуть вони дуже повільно – за рік у різних видів слань зростає від 1 до 10 мм.



**Рис. 4.3. Морфологічні групи лишайників:**  
А – накипний; Б – кущовий; В – листоватий

У біотехнології лишайники можливо застосовувати для отримання натуральних барвників, закріплювачів запахів у парфумах, як продукт харчування, як джерело ліхенових кислот, що володіють бактерицидною активністю. Із тайгового лишайника уснеї отримують антисептичну речовину – уснінову кислоту.



## Завдання

1. Замалюйте і підпишіть у зошиті: рис. 4.1. *Мікроміцети та макроміцети*, рис. 4.2 *Типи водоростей* та рис. 4.3 *Морфологічні групи лишайників*.

2. Опишіть у таблиці біологічні особливості і сфери біотехнологічного застосування грибів, водоростей і лишайників:

| Група організмів                   | Біологічні особливості | Застосування у біотехнологічних процесах |
|------------------------------------|------------------------|--|
| Гриби мікроміцети<br>Дріжджі       |                        |  |
| Гриби мікроміцети<br>цвілеві гриби |                        |  |
| Гриби макроміцети                  |                        |  |
| Водорості                          |                        |  |
| Лишайники                          |                        |  |

Контрольні запитання:

1. Наведіть загальну характеристику мікроміцетів. Сфера їх застосування у біотехнології.
2. Продукти біотехнології, що отримано шляхом культивування мікро- та макроміцетів.
3. Водорості у біотехнології, їх роль у отримання харчових добавок та у технологіях захисту навколишнього середовища.
4. Охарактеризувати особливості лишайників як біопроцентів.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5

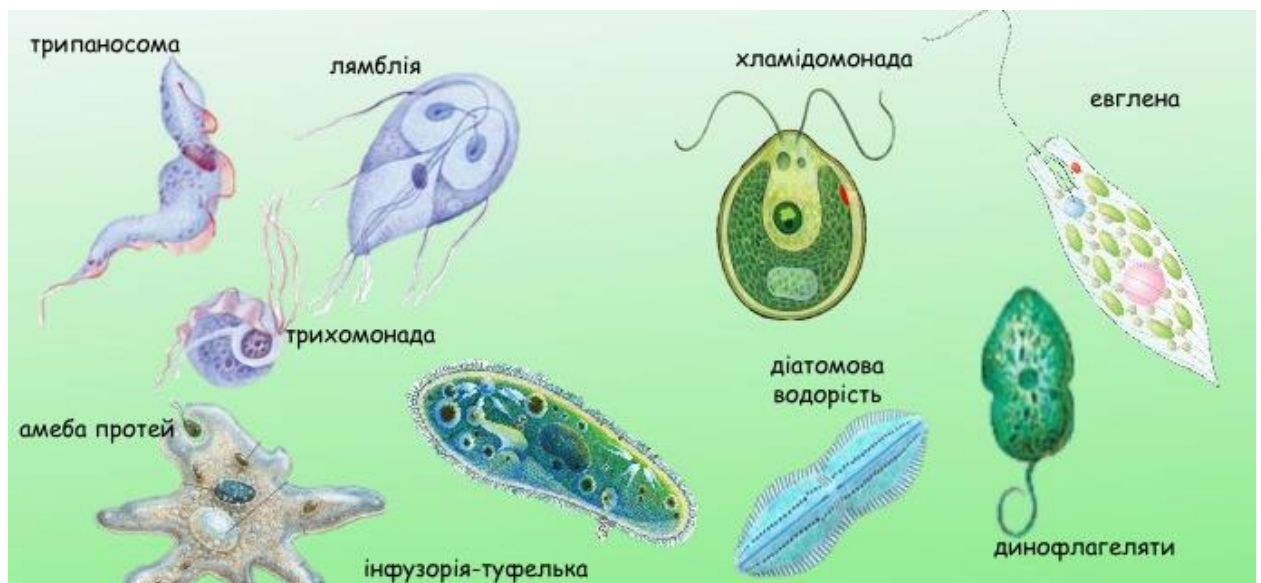
**Тема: Найпростіші та черв'яки як біопродуценти біотехнологічних процесів.**

**Мета роботи:** ознайомитись з біологічними особливостями, різновидами найпростіших і черв'яків та їх використанням у біотехнологічних процесах.

**Матеріали й обладнання:** мікроскоп МІКМЕД-1, препарувальна голка, предметні і покривні скельця, пінцет, піпетка, скальпель, таблиці, рисунки, фотокартки; застійна вода (мул) з представниками найпростіших (*Protozoa*), жива культура черв'яків р. *Eisenia*.

*Найпростіші (Protozoa)* – мікроскопічні одноклітинні тварини Надцарства Eucariotae, які мешкають у воді, ґрунті або паразитують у тілі тварин. Підцарство включає п'ять типів: Саркодові, Джгутикові, Споровики, Інфузорії, Кнідоспоридії. Класифікація найпростіших заснована на способах переміщення: за допомогою псевдоподій (псевдоніжки) – амьоба, форамініфери, радіолярії; джгутиків – евглена зелена, лямблії, трипаносома; чи війок – інфузорія-туфелька, сувоїки або нерухомі форми – малярійний плазмодій. Тіло найпростіших складається з цитоплазми, одного або декількох ядер і органодів, які виконують певні життєві функції. За несприятливих умов найпростіші виділяють захисну оболонку і утворюють цисту. Більшість найпростіших живе у водному середовищі (рис. 5.1).

Найпростіші входять до складу ґрунтових біоценозів, активних мулів (зооглея), які використовуються у процесах біологічного очищення водоймищ, стічних вод. В активному мулі найпростіші виконують функції підтримання чисельного складу мікроорганізмів. Живлячись бактеріями та плаваючими речовинами, вони сприяють також освітленню води. *Protozoa* здатні виконувати функцію тест-індикаторів якості очищення стоків.



**Рис. 5.1. Найпростіші – одноклітинні тварини**

*Черв'яки (Annelida)*. Серед багатоклітинних тварин у біотехнології використовують черв'яків типу Кільчасті черв'яки (Клас Малощетинкові черв'яки-олігохети). Олігохети – велика та ще недостатньо вивчена група тварин, поширених переважно в ґрунті та прісних водоймах. Все черв'якоподібне тіло поділено перетяжками на окремі ділянки – кільця, які називаються *сегментами* або *сомітами*. Число сегментів тіла може коливатися від 5-6 до 500-600, які звичайно несуть по чотири пучка щетинок. Пересуваються за рахунок почергових скорочень шкірно-м'язового мішка. Малощетинкові черв'яки – гермофродити з прямим типом розвитку (рис. 5.2).



Рис. 5.2. Біотехнологічний об'єкт – червоний каліфорнійський черв'як

Одними із найбільш відомих представників олігохет є дощові черв'яки. Дощові черв'яки та інші ґрунтові малощетинкові черви відіграють надзвичайно важливу роль у процесах ґрунтоутворення. Дощові черв'яки живляться відмерлими рештками рослин, затилюючи їх у свої ходи, і там збагачують ґрунт органічними речовинами. У процесі перетравлення залишок рослин у кишечнику черв'яків формуються органічні речовини, з яких утворюється гумус. Дощовий черв'як *Eisenia foetida* (гнойовий) часто зустрічається у купах гною чи компосту. Він переробляє органічну масу на високоефективне добриво (біогумус).

Вченими штучно створена високопродуктивна порода цих тварин – “каліфорнійський черв'як”. Вермікультування – перспективна галузь біотехнології, в якій використовуються властивості каліфорнійського черв'яка: одержання його біомаси, біогумусу, біогумату (витяжка з біогумусу, яка містить комплекс біологічно активних речовин, зокрема фітогормонів).

### **Завдання:**

1. Замалюйте і підпишіть у зошиті рис. 5.1 та 5.2.
2. Опишіть біотехнологію активного мулу як метод очищення стічних вод з використанням найпростіших.
3. Коротко опишіть інші сфери застосування найпростіших у біотехнології.
4. Опишіть технологію вермикультивування (вермикультури).
5. Наведіть приклади використання чер'вяків для переробки відходів та рекультивації земель.

### **Контрольні запитання:**

1. Загальна характеристика найпростіших.
2. Назвіть чотири класи найпростіших та наведіть представників.
3. Вермикультура та її особливості.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 6

**Тема: Основні види поживних середовищ, що використовуються у біотехнології.**

**Мета роботи:** ознайомитися з різними видами поживних середовищ (субстратів) у біотехнологічних процесах та технікою їх приготування.

**Матеріали й обладнання:** різні види поживних середовищ у пробірках і чашках Петрі, субстрати, що застосовують як компоненти живильних середовищ біопродуцентів.

Важливим етапом біотехнологічного процесу є *культивування мікроорганізмів* – вирощування їх на штучних поживних середовищах (субстратах).

Субстрати вміщують необхідний набір різних хімічних елементів, які беруть участь в обміні між клітинами мікроорганізмів та середовищем. Вони є джерелами живлення та енергії для біооб'єктів.

Розвиток мікроорганізмів здійснюється, коли у зовнішньому (поживному) середовищі присутні всі необхідні поживні речовини для проходження пластичних та енергетичних процесів (анаболізму і катаболізму), а саме: джерела карбону, нітрогену, кисню та гідрогену, зольних макроелементів (*P, S, K, Mg, Ca, Fe*) та мікроелементів.

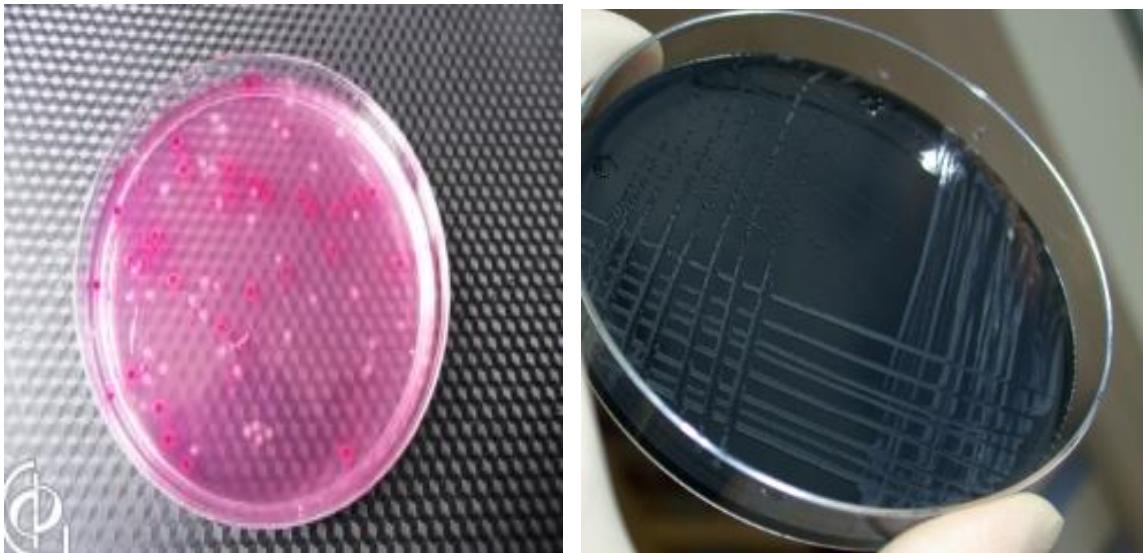
Різноманітність метаболічних процесів у клітинах мікроорганізмів визначають їх різні потреби в поживних елементах. Невіддільною частиною субстрату є вода як розчинник поживних сполук.

Поживні середовища можуть бути з не точно визначеним складом, тобто включати біогенні (рослинні, тваринні, мікробні) речовини – **натуральні середовища**; можуть включати хімічні сполуки з визначеною кількістю, співвідношенням компонентів – **синтетичні середовища**, а також можуть бути **напівсинтетичними** (до натурального субстрату додаються речовини відомої хімічної природи). Найбільш поширеними є напівсинтетичні субстрати.

Компонентний склад субстратів залежить від потреб біооб'єкту у поживних речовинах (*автотрофи* синтезують органічні речовини клітин з  $\text{CO}_2$  та  $\text{H}_2\text{O}$  з утилізацією сонячної енергії, а *гетеротрофи* потребують органічні джерела карбону та (або) енергії).

У біотехнологічних процесах використовуються різні за фізичним станом поживні середовища (твердофазні, рідинні, газоподібні).

В практику біотехнології для виділення мікроорганізмів з природних місць їх існування введені **елективні** (вибіркові) середовища, які забезпечують переважний розвиток необхідної групи мікроорганізмів (рис.6.1).



**Рис. 6.1. Приклади поживних середовищ за призначенням:**  
 А – середовище Ендо дифенційно-діагностичне; Б – елективне середовище Вільсона-Блера

З техніко-економічних позицій субстрат – це сировина для отримання цільового продукту. Сировина повинна бути недефіцитною, дешевою, відновлювальною та доступною.

Приклади поживних субстратів, які широко використовуються у біотехнології наведені у табл. 6.1.

Таблиця 6.1.

### Основні види субстратів біотехнології

| Субстрат   | Призначення                 | Сировина для одержання субстрату                          |
|--|-----------------------------|---|
| <b>1. Вуглеводи</b>  |                             |   |
| Глюкоза  | Джерело "С" та енергії      | Крохмаль, целюлоза  |
| Сахароза   | — " —                       | Цукровий буряк, тростина                                  |
| Лактоза  | — " —                       | Молочна сироватка   |
| Крохмаль   | — " —                       | Картопля, кукурудза та ін.                                |
| Целюлоза   | — " —                       | Рослинна сировина   |
| <b>2. Спирти</b>   |                             |   |
| Етанол   | Джерело "С" та енергії      | Цукрові субстрати рослинного походження, вуглеводні нафти |
| Метанол  | — " —                       | Рослинні гідролізати                                      |
| <b>3. Вуглеводені</b>  |                             |   |
| Алкани (C <sub>1</sub> -C <sub>9</sub> ; C <sub>10</sub> -C <sub>20</sub> і більш) | Джерело "С" та енергії      | Нафта, газовий конденсат                                  |
| <b>4. Азотвмісні сполуки</b>   |                             |   |
| Сульфат амонію   | Джерело "N"                 | Мінеральні речовини                                       |
| Аміак  | — " —                       |   |
| Сечовина   | — " —                       |   |
| Гідрофосфат амонію   | Джерело нітрогену і фосфору |   |
| <b>5. Субстрати невизначеного складу</b>   |                             |   |
| Меляса   | Джерело "С" та енергії      | Побічний продукт цукрового виробництва                    |
| Сульфітні щолока   | Джерело "С" та енергії,     | Деревина, побічний продукт її                             |

| Субстрат   | Призначення  | Сировина для одержання субстрату  |
|--|--|---|
| Рослинні гідролізати<br>Рослинні та тваринні жири<br>Дріжджовий екстракт<br>Соева мука | мінеральних солей<br>Джерело карбону, енергії<br>— " —<br><br>Джерело С, N, енергії,<br>мінеральних солей<br>— " — | переробки<br>Однорічні рослини, деревина<br>(гідроліз)<br>Рослинна та тваринна сировина<br><br>Півні або пекарські дріжджі<br><br>Соеві боби після видалення олії |

За участю поживних речовин субстратів (розчинів макро- та мікроелементів) отримується різноманітна біотехнологічна продукція: харчовий та кормовий білок, ферментні препарати, органічні кислоти, спирт, амінокислоти, вітаміни тощо.

*Варіанти рецептур поживних середовищ для культивування мікроорганізмів у біотехнологіях*

1. Натуральні середовища, які є добрими субстратами для росту та розвитку багатьох видів молочнокислих, оцтовокислих бактерій, дріжджів, мікроскопічних грибів та ін.:

– несхмелене пивне сусло на основі солоду. Основні компоненти: вуглеводи (мальтоза, декстрини) до 90% від загальної маси сухого залишку, азотвмісні речовини (6-7% від загальної маси сухого залишку), вітаміни, органічні кислоти, мінеральні солі. Сусло стерилізують при 0,5 атм 30 хвилин;

– м'ясо-пептоний бульон (МПБ). Основою є водний екстракт м'яса, до якого додається 1% пептону (продукту неповного розщеплення білків), 0,5% NaCl. МПБ стерилізують при 1 атм 20 хвилин.

– дріжджове середовище. Основою є дріжджова вода (70-100 г свіжих пресованих або 7-10 г сухих дріжджів 30 хвилин кип'ятять з 1 л води, потім фільтрують і додають мінеральні солі (0,1%  $K_2HPO_4$ , 0,5% NaCl). Стерилізують при 0,5 атм 20-30 хвилин.

– картопляне середовище, яке готується шляхом відвару картоплі (200 г картоплі на 1 л води) та ін.

2. Синтетичні субстрати:

Середовище Чапека для культивування мікроскопічних грибів: глюкоза – 30 г;  $NaNO_3$  – 2 г;  $KH_2PO_4$  – 1 г;  $MgSO_4$  – 0,5 г; KCl – 0,5 г;  $FeSO_4$  – 0,01 г;  $H_2O$  – 1 л.

3. Напівсинтетичні субстрати:

МПБ з додаванням глюкози і фосфорнокислого калію однозаміщеного або картопляне середовище з додаванням глюкози та пептону та ін.

**Завдання:**

1. Дайте визначення і коротко опишіть різні поживні середовища для культивування мікроорганізмів – натуральні, синтетичні, напівсинтетичні, елективні.

2. Надайте інформацію про агар-агар як поживне середовище для мікробіологічних робіт.

3. Наведіть декілька рецептур поживних середовищ для культивування мікроорганізмів у біотехнологіях.

4. Складіть таблицю з характеристикою досліджених видів сировини, яка використовується для виготовлення живильних середовищ у біотехнології .

Таблиця 2.

| № п/п | Вид сировини | Поживні речовини (субстрат) | Біотехнологічне призначення |
|-------|--------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 1     |              |                             |                             |
| 2     |              |                             |                             |
| 3     |              |                             |                             |
| 4     |              |                             |                             |
| ...   |              |                             |                             |

**Контрольні запитання:**

1. Природні середовища мешкання мікроорганізмів.
2. Елементи живлення мікроорганізмів: автотрофи, гетеротрофи.
3. Види поживних середовищ, їх розподіл за призначенням.
4. Приклади поживних середовищах за консистенцією.
5. Наведіть приклади поживних середовища натурального, синтетичного та напівсинтетичного складу, що застосовується у біотехнології.



## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 7

**Тема: Сучасні методи мікроскопічного дослідження мікроорганізмів-продуцентів.**

**Мета роботи:** знайомство з особливостями методів мікроскопічного дослідження мікроорганізмів-продуцентів біотехнологічної продукції. Опанування методів підготовки препаратів живих і фіксованих пофарбованих клітин мікроорганізмів та проведення мікроскопічного дослідження прижиттєвих препаратів мікроорганізмів.

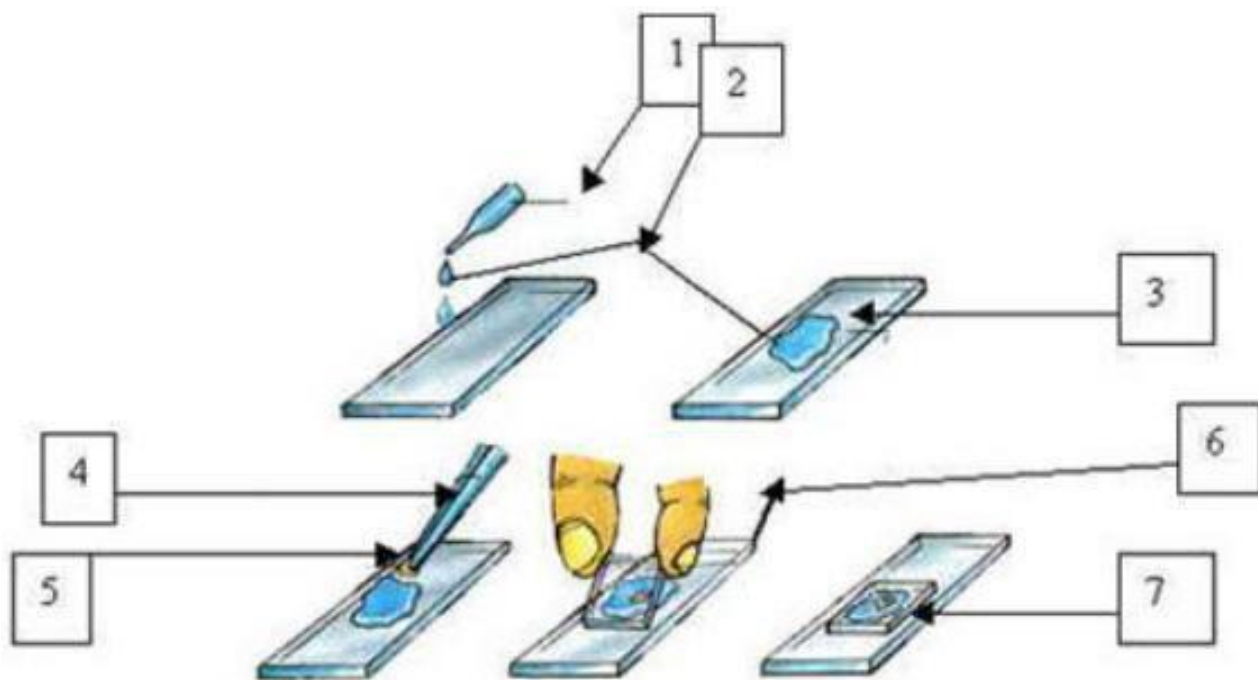
**Матеріали й обладнання:** мікроскоп МІКМЕД-1, піпетки на 1-2 мл, бактеріологічна петля, пінцет, тонкі предметні й покривні скельця, спиртівка (брикети сухого пального), кювета з містком для фіксованих препаратів, розчини метиленового синього (1:40), фуксину основного, генціанвіолету, імерсійна олія, бензин, серветки, фільтрувальний папір, дезінфікуючий розчин, дистильована вода, кефір з молочнокислими бактеріями *Streptococcus lactis*, настій біогумусу з бактеріями *Bacillus subtilis*, суспензія добової культури дріжджів *Saccharomyces cereviceae*, цвілеві гриби (*Mucor*; *Penicillium*; *Aspergillus*), наочні препарати сухих та законсервованих шапкових грибів (*Pleurotus ostreatus*), водорості у пробах річної води (*Micrococcus*, *Nostoc*, *Oscillatoria*, *Chara*), застійна вода (мул) з представниками найпростіших (*Protozoa*).

### **Методи мікроскопічного дослідження препаратів мікроорганізмів**

**Метод «роздавленої краплі».** На чисте знежирене предметне скло мікробіологічною петлею наносять краплю суспензії мікроорганізмів. Якщо в культурі розвилося дуже багато бактерій, її розводять водою. Покривне скло ставлять на ребро з краю краплі і поступово опускають на неї. Між стеклами не повинно залишатися пухирців повітря, які заважатимуть мікроскопії. Крапля повинна бути невеликою, щоб після «роздавлення» рідина не виступала за край покривного скла. Препарат розглядають із сухою системою (рис. 7.1).

**Метод «висячої краплі».** Препарат «висяча крапля» використовують для виявлення рухливості м/о. Крім того, можна довгостроково спостерігати за життєдіяльністю м/о: розмноженням, утворенням і проростанням спор.

Для готування препарату невелику краплю суспензії мікроорганізмів наносять на покривне скло, перевертають його краплею вниз і поміщають на спеціальне предметне скло з поглибленням (лункою) у центрі. Крапля повинна вільно висіти, не торкаючись країв і дна лунки. Край лунки попередньо змащують вазеліном. Крапля виявляється герметично замкненою у вологій камері, що дозволяє багатоденне спостерігання за об'єктом.



**Рис. 7.1. Виготовлення препарату «роздавлена крапля».**

За допомогою піпетки (1) крапля води (2) наноситься на середину чистого знежиреного скла (3), за допомогою бактеріологічної петлі (4) вносять культуру мікроорганізмів (5), не допускаючи розтікання рідини (6) краплю обережно накривають покривним склом (7).

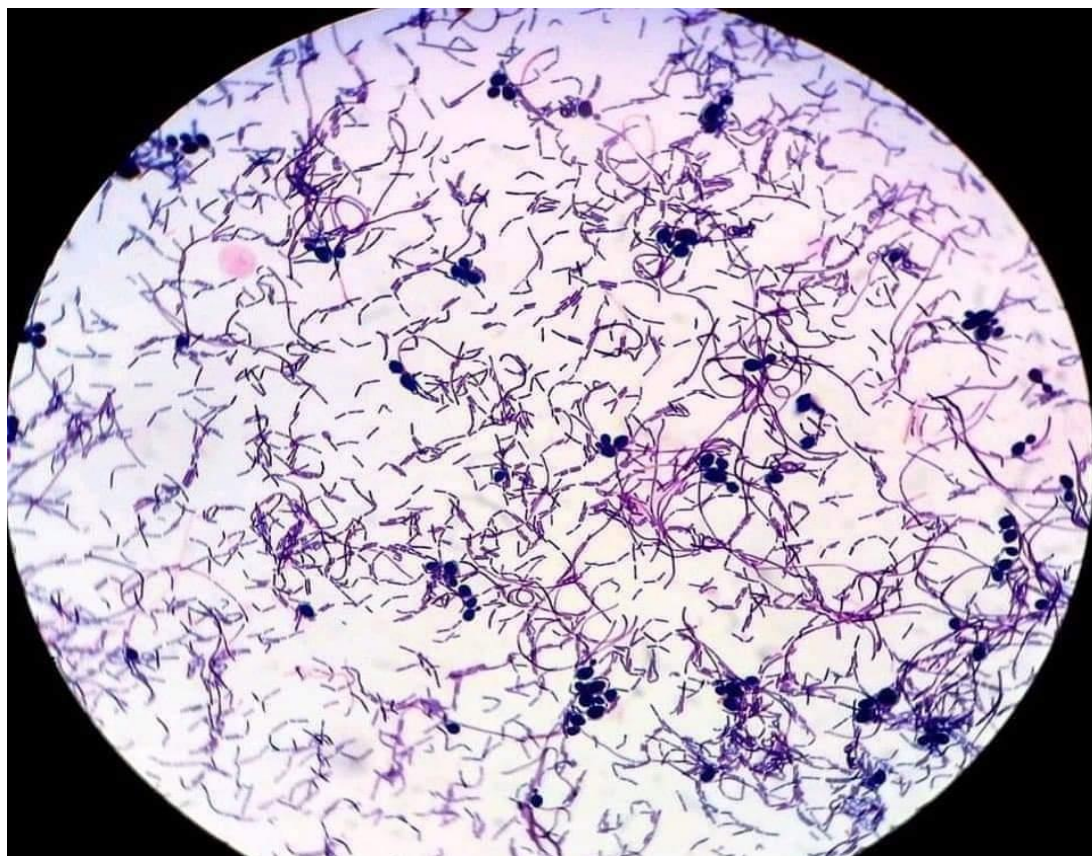
Препарати розглядають під мікроскопом, злегка затемнюючи поле зору; конденсор трохи опускають, надходження світла регулюють увігнутих дзеркалом. З невеликим збільшенням знаходять край краплі, що буде чітко видний у затемненому полі зору. Край краплі пересувають у центр поля зору мікроскопа і переводять на велике збільшення, розширивши при цьому діафрагму. Більш чіткі результати можна одержати у мікроскопії у темному полі чи у фазовому контрасті.

*Препарат «відбиток».* Ці препарати є зручними для вивчення природного розташування клітин у колонії мікроорганізмів та особливо для дослідження форми спор і спороносіїв актиноміцетів і грибів.

З агаризованої пластинки, на якій мікроорганізмів вирости суцільним газоном, вирізають скальпелем невеликий блок і переносять на предметне скло так, щоб поверхня з мікроорганізмів була звернена нагору. Потім до газону прикладають чисте покривне скло і негайно знімають, намагаючись не зрушити убік. Отриманий препарат поміщають відбитком униз у краплю води (можна в краплю метиленового синього) на предметне скло і розглядають під мікроскопом із сухою системою. Такий відбиток можна одержати і на предметному склі, якщо торкнутися їм поверхні колонії. Відбитки можна фіксувати й забарвлювати будь-яким способом.

*Метод простого забарвлення клітин мікроорганізмів (фіксований препарат).* Дослідження фіксованих забарвлених препаратів – найбільш розповсюджений мікробіологічний метод для виявлення морфологічних

особливостей, кількісного обліку мікроорганізмів, а також для перевірки чистоти культури. Фіксовані забарвлені препарати можуть зберігатися тривалий час і розглядаються з імерсією. У простому забарвленні мікроорганізмів застосовують якийсь один з основних анілінових барвників: метиленовий синій, основний фуксин, генціановий фіолетовий, кристалічний фіолетовий. При цьому профарбовується вся клітина (рис.7.2).



**Рис. 7.2. Мікробіологічний препарат, зафарбований за Грамом**

*Виготовлення мазка.* За допомогою стерильної бактеріологічної петлі чи піпетки нанести на знежирене предметне скло краплю суспензії мікроорганізму. Матеріал із густого живильного середовища взяти бактеріологічною петлею і внести його в краплю стерильної водопровідної води. Матеріал рівномірно тонким шаром розподілити на площі 1-2 см<sup>2</sup>.

*Висушування мазка.* Висушити приготовлений мазок при кімнатній температурі у повітрі. Тонкий мазок висихає дуже швидко. Якщо висушування мазка уповільнене, препарат можна злегка нагріти в струмені теплого повітря, тримаючи предметне скло високо над полум'ям пальника мазком нагору. Цю операцію проводять дуже обережно, не перегріваючи мазка, інакше клітини мікроорганізмів деформуються.

*Фіксація.* Фіксація переслідує кілька цілей: забезпечити прикріплення клітин до скла; зробити мазок більш сприйнятливим до забарвлення, оскільки мертві клітини забарвлюються краще, ніж живі; зробити безпечним подальші маніпуляції з мазком, що важливо в роботі з патогенними мікроорганізмами. Найпростіший і розповсюджений спосіб фіксації - термічна обробка. Після

висушування мазок зафіксувати в полум'ї пальника. Тримаючи скло мазком нагору, тричі провести його через гарячу частину полум'я пальника. Щоб уникнути перегріву, час прямого впливу полум'я не повинний перевищувати 3-4 с. Крім жару фіксацію можна робити хімічними речовинами, для цього використовують 96%-ний етиловий спирт (час фіксації 5-10 хвилин), суміш Нікіфорова (спирт: ефір – 1:1; час фіксації 10-15 хвилин); ацетон (5 хвилин) та ін.

*Забарвлення.* Фіксований препарат помістити мазком нагору на місток із двох паралельних скляних паличок, з'єднаних гумовими трубками, що знаходяться на стінках кювети чи кристалізатора. Нанести на нього 2-3 краплі барвника (кінець піпетки не повинний торкатися мазка!) на 2-3 хв. Під час забарвлення розчин барвника на мазку не повинний підсихати, при необхідності доливати нові порції. Для одержання більш чистих препаратів барвник наливають на мазок, покритий фільтрувальним папером. По закінченні фарбування препарат промивають водою доти, поки стікаюча вода не стане безбарвною. Потім препарат висушують у повітрі і промокають фільтрувальним папером. Виконати мікроскопію з імерсією фіксованого та забарвленого препарату мікроорганізму.

*Дослідження фіксованого препарату з імерсійним об'єктивом.* Після встановлення освітлення приготовлений сухий пофарбований препарат спочатку розглядають із невеликим збільшенням під об'єктивом сухої системи (8×, 40×). Знайшовши найбільш удале місце на ньому, препарат закріплюють затискачами на столику мікроскопа. Тубус мікроскопа піднімають і, повертаючи револьвер, встановлюють імерсійний об'єктив. Потім у центр препарату на мазок, не знімаючи з столика мікроскоп, наносять краплю імерсійної (кедрової) олії і, дивлячись збоку, обережно опускають тубус мікроскопа до занурення об'єктива в олію. Стежать за тим, щоб фронтальна лінза не торкнулася предметного скла і не одержала ушкодження. Після цього, дивлячись в окуляр, макрометричним гвинтом повільно піднімають об'єктив до появи в полі зору досліджуваного об'єкта. Фокус уточнюють за допомогою мікрометричного гвинта.

Після роботи кедрову олію негайно видаляють з об'єктива серветкою, що змочена очищеним бензином. Ксилол і спирт використовувати не рекомендується, тому що вони можуть викликати розклеювання лінз об'єктивів.

У правильно забарвленому і добре промитому препараті поле зору залишається світлим і чистим, а пофарбованими залишаються клітини мікроорганізмів.

### ***Завдання:***

1. Коротко опишіть в зошиті методи мікроскопічного дослідження препаратів мікроорганізмів і зробіть відповідні малюнки та схеми.
2. Які особливості приготування мазка «висяча крапля».

3. Замалуйте у зошиті препарати: «роздавлена» та «висяча» крапля; препарат відбиток та приготовані варіанти фіксованих мікробіологічних препаратів.

4. Перегляньте навчальні відеофільми з теми лабораторної роботи за наступними посиланнями:

<https://www.youtube.com/watch?v=i1Gb3HcvpAU>

<https://www.youtube.com/watch?v=K8VwZSfcDUk>

<https://www.youtube.com/watch?v=QsJuZdD7Y78>

<https://www.youtube.com/watch?v=aXqHBxvtPDU>

**Контрольні запитання:**

1. Назвіть сучасні методи мікробіологічних досліджень. Види мікроскопії.
2. Опишіть роботи скануючого конфокально-лазерного мікроскопу.
3. Особливості приготування тимчасових та фіксованих препаратів.
4. Методи фіксації мікробіологічних препаратів.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 8

**Тема:** Методи одержання культур мікроорганізмів

**Мета роботи:** знайомство з методами одержання накопичувальних та чистих культур мікроорганізмів.

**Матеріали й обладнання:** чашки Петрі, агаризоване поживне середовище, суспензії мікроорганізмів у пробірках, бактеріологічні петлі, мікробіологічні голки і шпатель, спиртові пальники, термостат.

### *Методи одержання накопичувальних та чистих культур мікроорганізмів*

Розвинені у різних природних середовищах мікроорганізми, отримані від тварини, людини, чи рослини, чи іншого субстрату є **культурою**. Розвиток культури мікроорганізмів в рідкому середовищі призводить до утворення суспензії або осаду, плівки, **колонії** на твердому середовищі. Культивування за умов визначеної температури (у термостаті) називається **інкубацією**.

У біотехнологічній практиці широко використовуються **чисті культури** мікроорганізмів.

**Чисті культури** необхідно виділяти для вивчення фізіолого-біологічних особливостей розвитку мікроорганізмів (бактерій), а також для встановлення їх видової приналежності.

**Чиста культура мікроорганізмів** одного виду (рис. 8.1), що виділена з певного джерела і відрізняється від інших представників виду незначними змінами, називається **штамом**. **Чиста культура мікроорганізмів**, що є потомством однієї єдиної клітини, називається **клоном**.



**Рис. 8.1.** Виділення чистої культури мікроорганізмів (засів штрихом на чашку Петрі)

Виділення *чистої культури* проводиться за такими етапами:

- одержання *накопичувальної культури*;
- виділення чистої культури з ізольованих колоній за методом Коха;
- визначення чистоти культури, що виділена, та вивчення її культуральних властивостей;
- ідентифікація мікроорганізмів із різних властивостей: морфологічних, біохімічних (ферментативних), антигенних і т.п.

*Накопичувальними культурами* називаються культури, які складаються переважно з клітин одного виду.

Метод Виноградського передбачає одержання *накопичувальних культур мікроорганізмів* певних фізіологічних груп і заснований на використанні елективних (виборчих) середовищ, що забезпечують переважний розвиток певних бактерій. Інші організми в цих умовах не можуть розмножуватися чи їх ріст буде дуже незначний.

Внесення клітин мікроорганізмів (зразка ґрунту, проби води) у стерильне живильне середовище для одержання накопичувальної чи чистої культури називається *посівом, чи інокуляцією*. Для одержання *накопичувальних культур* кращим матеріалом для інокуляції служать субстрати, в яких відбувається їх природне «збагачення».

Елективні умови передбачають ряд факторів, наприклад, потреба мікроорганізмів у живильному субстраті, відношення до кисню, кислотність середовища, температура, здатність до спороутворення та ін.

Підбираючи оптимальний склад живильного середовища та параметри культивування й інокулюючи середовище якими-небудь природними субстратами, що містять різноманітні мікроорганізми, можна одержати *накопичувальну культуру* організмів. Вона характеризується певними фізіолого-біохімічними властивостями і є матеріалом для виділення *чистої культури* мікроорганізмів (рис. 8.2).

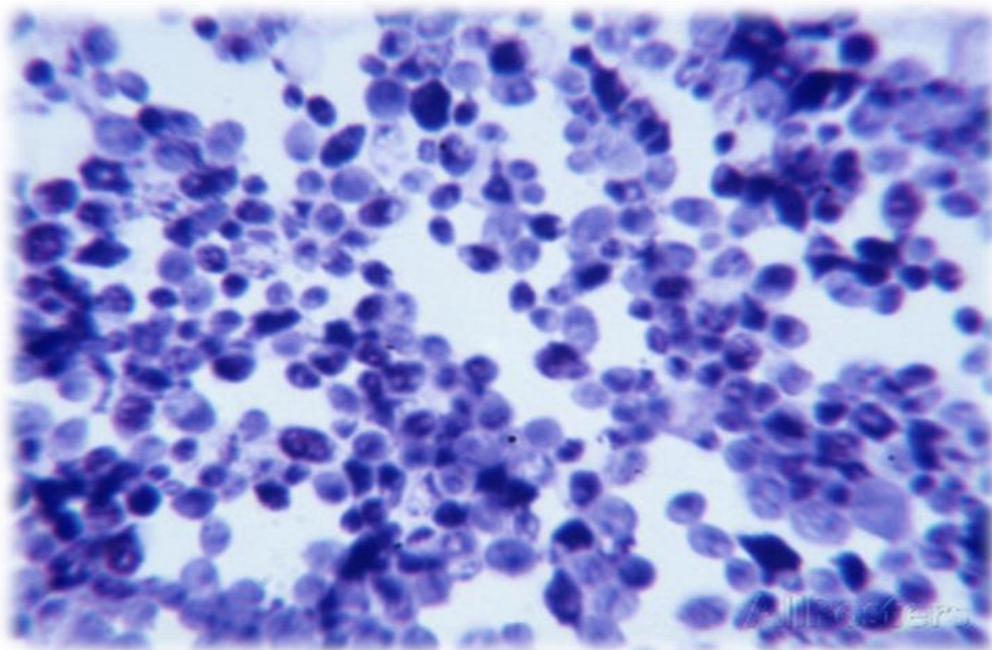
Метод Коха (рис. 8.3) заснований на одержанні ізольованих колоній і виділенні з них *чистих культур* аеробних бактерій. Для цього з накопичувальної культури роблять посів на поверхню твердого (агаризованого) живильного середовища у чашки Петрі за такою послідовністю:

- розплавляють стерильне агаризоване сушло в колбі на водяній бані і розливають його у 3-4 стерильні чашки Петрі;

- мікроорганізми висівають і розподіляють шпателем Дригальського чи петлею, використовуючи техніку виснаженого штриха чи мазка (рис. 1) послідовно в декількох чашках Петрі з застиглим твердим агаризованим середовищем;

- на поверхню середовища першої чашки, використовуючи петлю, наносять краплю розведення накопичувальної культури та обережно розтирають її стерильним скляним шпателем по всій поверхні;

- цим же шпателем із клітинами мікроорганізмів, що залишилися на ньому, засівають поверхню другої чашки. Далі цим же шпателем проводять вздовж поверхні третьої чашки Петрі;
- після посіву чашки необхідно перевернути нагору дном і поставити в термостат із температурою, що сприятлива для даного мікроорганізму;
- інкубують посіви звичайно протягом 2-5 діб (у залежності від швидкості росту конкретних мікроорганізмів);
- після інкубації, коли у перших чашках спостерігається суцільний ріст мікроорганізмів (суцільний «газон»), а в наступних утворюються ізольовані колонії, ізольовані колонії відсівають петлею в пробірки на поверхню скошеного густого середовища чи в рідке середовище.



**Рис. 8.2. Чиста культура *Saccharomyces cerevisiae***

У випадку засіву за секторами у перших відбувається суцільний ріст, а уздовж наступних штрихів виростуть відособлені колонії м/о, що представляють потомство однієї клітини – клон.

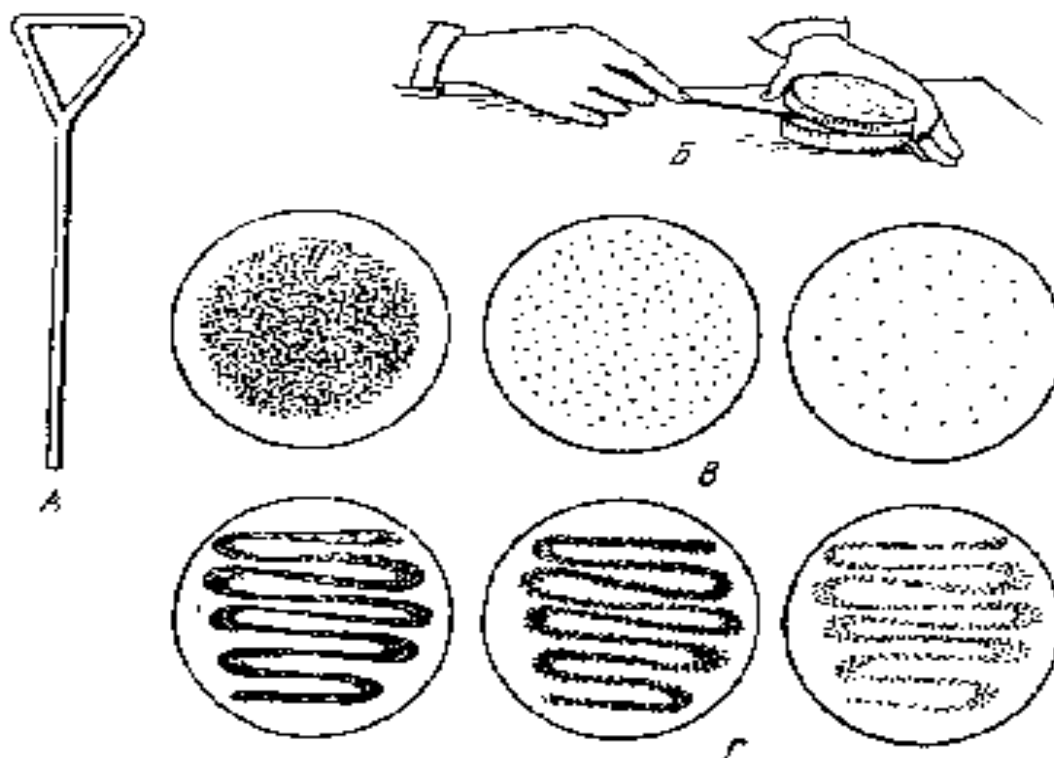
Усі операції з посівів мікроорганізмів виконуються стерильно біля вогню.

Висів із накопичувальної культури мікроорганізмів, що належать до факультативних аеробів чи факультативних анаеробів, для одержання ізольованих колоній роблять методом глибинного посіву в пробірки зі стовпчиком стерильного агару. Стерильною голкою беруть чисту культуру з колоній, одночасно виймають пробку, обпалюють край пробірки і, тримаючи її вверх дном, голкою над пальником роблять прокол до дна.

Виділення чистої культури **анаеробних** бактерій за методом Коха можливе тільки в умовах, що виключають доступ до них вільного кисню. **Анаеробні** мікроорганізми можна культивувати у звичайних пробірках і



чашках Петрі, поміщаючи їх після посіву в анаеростати – вакуумні скляні ексикатори.



**Рис. 8.3.** Розсів мікроорганізмів на поверхню твердого середовища за методом Коха: а – шпатель Дригальського; б – розсів; в – ріст мікроорганізмів після розсіву шпателем; г – ріст мікроорганізмів після розсіву петлею.

**Завдання:**

1. Дайте визначення мікробіологічним термінам: культура мікроорганізмів, колонія, інкубація, штам, клон, чиста культура, накопичувальна культура, посів.

2. Опишіть методи одержання накопичувальних та чистих культур мікроорганізмів.

3. Коротко опишіть способи промислового культивування мікроорганізмів.

4. Перегляньте навчальні відеоматеріали за темою лабораторної роботи за наступними посиланнями:

<https://www.youtube.com/watch?v=jEAcop-mZ2w>,

<https://www.youtube.com/watch?v=cZoqxsMs0do>,

<https://www.youtube.com/watch?v=EXzFsLx8zI4>,

[https://www.youtube.com/watch?v=ihL7\\_JM2azk](https://www.youtube.com/watch?v=ihL7_JM2azk)

**Контрольні запитання:**

1. Яким чином можна виділити чисту культуру мікроорганізмів.

2. Середовища для одержання накопичувальних культур мікроорганізмів.

3. Особливість методу Коха.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 9

**Тема:** Системи лабораторних та промислових біореакторів, їх призначення.

**Мета роботи:** ознайомитися з різними типами біореакторів, які використовуються у біотехнологічних промислових процесах та в умовах лабораторії.

**Матеріали й обладнання:** макети біореакторів, плакати, фотоматеріали, конспекти лекцій, лабораторний посуд та пристрої.

Вибір біореактору–ферментатору є третьою стадією біотехнологічного процесу.

*Біореактори* – це спеціальні системи, якими оснащуються біотехнологічні процеси і які використовуються для культивування біомаси та синтезу вторинних метаболічних сполук (продуктів обміну). Відрізняються від хімічних реакторів тим, що крім етапів завантаження субстратів, їх перетворення, відділення та очищення цільового продукту, у цих біосистемах реалізація процесів проходить за принципами поетапного збільшення об'єму апарату (принцип масштабування), однорідності фізико-хімічних умов (температури, рН середовища субстрату, концентрації розчинених речовин, кисню та інших газів). Суттєво відрізняються і процеси масообміну (між газовою та рідинною фазами).

Сучасний біореактор повинен включати наступні взаємопов'язані системи (рис. 9.1):

- антикорозійного покриття;
- ефективного перемішування та гомогенізації субстрату;
- забезпечення доступу та швидкої дифузії газоподібних агентів (аерація середовища, забезпечення  $O_2$ );
- теплообміну (підтримання температурного режиму);
- піногасіння;
- стерилізації середовища, апаратури та повітря;
- контролю та регуляції процесу.

За цільовим призначенням біореактори класифікуються на:

- лабораторні (міні) від 0,5 л до 1 м<sup>3</sup>;
- пілотні (дослідно-промислові) 10-100 м<sup>3</sup>;
- промислові 1000 м<sup>3</sup> та більш.

Лабораторні, пілотні та промислові реактори відрізняються за умовами тепло-, масообміну та перемішування.



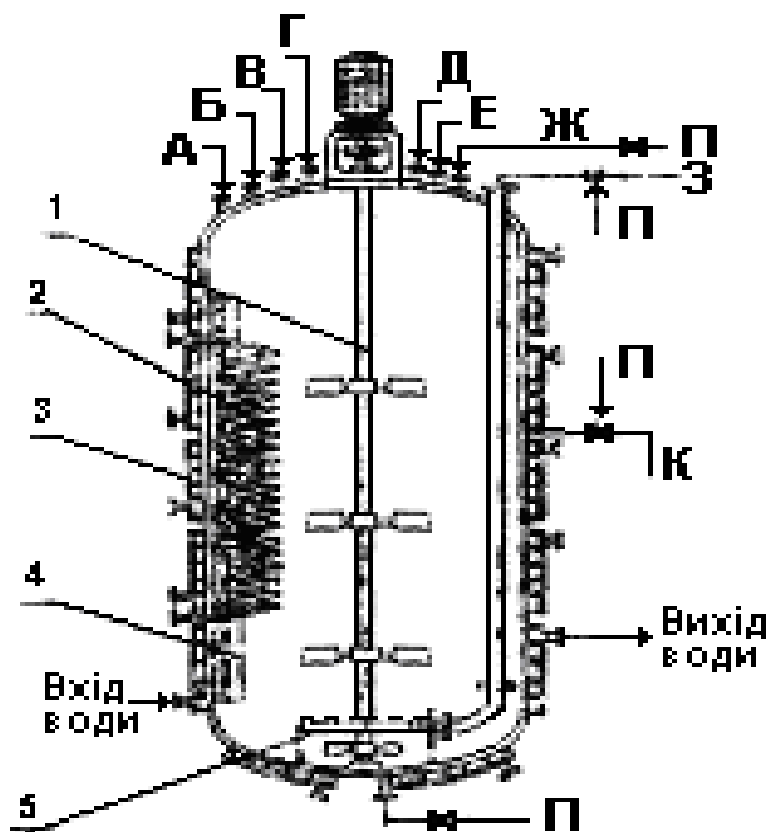
**Рис. 9.1** Біореактори, що використовують на сучасних виробництвах

Лабораторні та пілотні біореактори – це пошуковий шлях. На кожному з етапів проводиться нарощування масштабу біотехнологічного процесу (принцип масштабування), вирішуються завдання з налагодження та оптимізації біотехнології (рис.9.2).



**Рис. 9.2. Лабораторний біореактор для глибинного культивування**

Важливу роль при культивуванні біомаси відіграє безперервне перемішування, яке забезпечує добру аерацію та перешкоджає висадженню клітин біооб'єкту. В лабораторних умовах перемішування досягається при застосуванні качалочних та ролерних установок., у промислових – за допомогою багатоярусних мішалок (рис.9.3).



**Рис. 9.3. Ферментатор періодичної дії:**

- А – загрузочна лінія;
- Б – видалення відпрацьованого повітря;
- В – подача стерильного стиснутого повітря;
- Г – подача пару;
- Д – лінія введення додаткових речовин;
- Е – подача піногаснику;
- Ж – подача миючого розчину;
- З – подача повітря у барботер;
- К – відбір проб;
- П – пара
- 1 – турбінна трирядна мішалка;
- 2 – змійовик;
- 3 – секційна охолоджуюча сорочка;
- 4 – відбиваюча перегородка;
- 5 – барботер

**Завдання:**

1. Розглянути різні види біореакторів (промислові: ферментатор періодичної дії, біореактор для твердофазного культивування, дріжджезрощувальний апарат з дифузorzом та пропелером для інтенсифікації циркуляції, колонний вертикальний ферментатор; лабораторні: термостат, качалочні установки, бокси).

2. Схематично у зошиті зобразити приклади промислових та лабораторних біореакторів (колончатого типу, термостат, качалочного типу). Позначити основні частини біотехнологічних реакторів.

3. Принципові особливості біореакторів описати в таблиці (табл. 1).

Таблиця 1

| Види біореакторів                          | Біотехнологічні призначення | Схема конструкції з позначеннями |
|--|-----------------------------|----------------------------------|
| <u>Лабораторні</u> :<br>(навести приклади) |                             |                                  |
| <u>Промислові</u> :<br>(навести приклади)  |                             |                                  |

### **Контрольні питання:**

1. Принципи оснащення біотехнологічних виробництв.
2. Поняття про корозію.
3. Поняття про біопошкодження.
4. Системи біореакторів, їх призначення.
5. Класифікація біореакторів за принципом перемішування.
6. Принцип масштабування біотехнологічних процесів.
7. Класифікація біореакторів за режимом роботи.
8. Класифікація біореакторів за умовами культивування.
9. Приклади біореакторів.
10. Призначення системи аерації.
11. Призначення системи перемішування.
12. Призначення системи теплообміну.
13. Принцип асептики у біотехнології.
14. Призначення системи контролю у біореакторах.

## РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Біотехнології в екології: навч. посібник / А.І. Горова, С.М. Лисицька, А.В. Павличенко, Т.В. Скворцова. – Д.: Національний гірничий університет, 2012. – 184 с.
2. Галяс В.Л., Колотницький А.Г. Біохімічний і біотехнологічний словник. – Львів: Оріяна-Нова, 2006. – 468 с.
3. Кляченко О.Л., Мельничук М.Д., Іванова Т.В. Екологічні біотехнології: теорія і практика: Навчальний посібник. – Вінниця, ТОВ «Нілан-ЛТД», 2015. – 254 с.
4. Кляченко О.Л. Біотехнологія та біоінженерія / О.Л. Кляченко, Ю.В. Коломієць, В.В. Бородай, О.В. Субін. – Вінниця, ТОВ «Нілан-ЛТД», 2017. – 650 с.
5. Мельничук М. Д. Біотехнологія в агросфері : навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів / М.Д. Мельничук, О.Л. Кляченко О. Л. – Київ, 2014. – 247 с.
6. Пирог Т.П., Ігнатова О.А. Загальна біотехнологія: Підручник /Т.П. Пирог, О.А. Ігнатова. — К.: НУХТ, 2009. — 336 с.
7. Швед О. В. Екологічна біотехнологія: навчальний посібник: кн. 1 / О. В. Швед, Р. О. Петріна, О. З. Комаровська-Порохнявець, В. П. Новіков. – Львів: Видавництво Львівської політехніки, 2018. – 424 с.
8. Швед О. В. Екологічна біотехнологія: навчальний посібник: кн. 2 / О. В. Швед, Р. О. Петріна, О. З. Комаровська-Порохнявець, В. П. Новіков. – Львів: Видавництво Львівської політехніки, 2018. – 368 с.

## ГЛОСАРІЙ ОСНОВНИХ ТЕРМІНІВ БІОТЕХНОЛОГІЧНОЇ ГАЛУЗІ

- Адсорбція** – поверхневе поглинання якої-небудь речовини із газоподібного або рідинного середовища.
- Автотрофи** – організми, які здатні синтезувати із неорганічних речовин органічні сполуки з використанням сонячної енергії або енергії хімічних реакцій (як джерело карбону використовують  $\text{CO}_2$ ).
- Аерація** – насичення середовища повітрям, киснем.
- Аеробні організми** – організми, які є життєздатними тільки в середовищах, що містять незалежний молекулярний кисень.
- Амінокислоти** – клас органічних речовин, які вміщують карбоксильну ( $-\text{COOH}$ ) та аміногрупу ( $-\text{NH}_2$ ) і володіють властивостями як кислот, так і лугів.
- Анаеробні організми** – організми, які є життєздатними у безкисневому середовищі.
- Антибіотики** – речовини біологічного походження, які здатні знищувати мікроорганізми або пригнічувати їх ріст.
- Антигени** – складні органічні речовини (білки, полісахариди або ін.), які сприймаються організмом як чужорідні і які здатні при потраплянні в організм людини або тварини викликати імунну реакцію (утворення антитіл).
- Антитіло** – складні білки – імуноглобуліни, які утворюються імунною системою організму людини або тварини у відповідь на введення антигену і які здатні вступати з ним у специфічну реакцію.
- Біотехнологія** – сукупність промислових методів, які використовують живі організми та біологічні процеси для виробництва цінних для народного господарства продуктів.
- Біотехнологічний процес** – промисловий процес, який включає три основні стадії: підбір біооб'єкту; культивування; виділення, очистку та модифікацію цільового продукту.
- Біотехнологічні продукти** – речовини, які утворюються в результаті життєдіяльності об'єктів біотехнології.
- Біореактор** – спеціальні технічні системи, якими оснащуються біотехнологічні процеси і які використовуються для культивування біомаси та синтезу вторинних метаболічних сполук (продуктів обміну).
- Біомаса** – клітинна маса живих організмів (популяцій, видів, групи видів, суспільств в цілому) в конкретних екологічних умовах.
- Біогаз** – горючий газ, який одержано з твердих та рідинних відходів, в тому числі з відходів тваринництва, стічних вод тощо, а також при зброджуванні спеціально зрощуваних водоростей або ін. організмів із значним приростом біомаси.
- Бродіння** – анаеробний ферментативний окислювально-відновний процес отримання енергії, в якому від субстрату (донора) відщеплюється

водень (або електрони) та переноситься на продукти – низькомолекулярні органічні речовини (акцептори) за певними умовами.

**Вакцини** – препарати, які одержані з живих (послаблених, знешкоджених) або мертвих мікроорганізмів, окремих компонентів мікробних клітин та продуктів їх життєдіяльності, які використовуються для імунізації людини або тварин з метою профілактики та лікування.

**Випарювання** – метод виділення біомаси із культуральної рідини – метод її зневоднення (концентрування біомаси).

**Висадження** – метод виділення біомаси із культуральної рідини за допомогою спеціальних хімічних речовин (стимуляція агрегації клітинної біомаси).

**Генетика** – наука, яка вивчає механізми і закономірності спадковості та мінливості організмів, методи управління цими процесами.

**Генотип** – сукупність генів організму.

**Гетеротрофи** – організми, які використовують для побудови клітин органічні речовини, що продуковані іншими видами організмів, як джерело карбону застосовують готові органічні сполуки.

**Дезинтеграція** – метод руйнування цілісного організму (клітин) на складові частини.

**Детермінація клітинного матеріалу** – здатність біологічного матеріалу при штучній пересадці на чуже місце у зародиші перетворитися в орган, який з нього утворюється в нормі.

**Експресія гену** – реалізація генетичної інформації, яка закодована у послідовності нуклеотидів молекули ДНК; складається з 2-х основних стадій – транскрипції та трансляції.

**Екстракція** – метод здобування продукту за допомогою екстрагентів (розчинників), які здатні його поглинати.

**Еукаріоти** – організми (людина, тварини та рослини), клітини яких містять оформлене ядро з двохшаровою мембраною та хромосомами.

**Імобілізація** – метод створення тимчасової нерухомості (біооб'єкт в системі носія).

**Імобілізовані клітини** – клітини, які включені до яких-небудь органічних носіїв (гелів, мембран, волокна) або закріплені на поверхні носія.

**Імунітет** – несприйняття організму до інфекційних агентів та чужорідних речовин, його здатність захистити свою цілісність і біологічну індивідуальність.

**Інокуляція** – введення живих мікроорганізмів, інфікованого матеріалу, сироватки або ін. речовин у живильні середовища, в тканини рослин та тварин (людини).

**Інтерферони** – захисні білки, які синтезуються клітинами організму людини, тварин у відповідь на зараження їх вірусами.



- Каллус** (callous) – маса недиференційованих клітин, які утворюються при пошкодженні рослини; розвиваються при культивуванні на штучних середовищах одинокі клітини з додаванням стимуляторів росту (фітогормонів).
- Клон** – група клітин-нащадків (генетично ідентичних), що виникли нестатевим шляхом з однієї клітини.
- Контамінація** – забруднення живильного середовища сторонньою мікрофлорою.
- Кріоконсервація** – метод глибокого заморожування клітин з подальшим зберіганням у рідинному азоті ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) або його парах ( $-150^{\circ}\text{C}$ ).
- Культуральна рідина** – водний розчин залишків живильного середовища та одержаних продуктів біосинтезу після етапу відділення біомаси.
- Ліофільне висушування** – метод консервації продуцентів шляхом заморожування розчину або суспензії клітин і подальшої сублимації (возгонки) у вакуумі.
- Масштабування** – процес перенесення біотехнологічного процесу з лабораторних умов до промислових.
- Метаболіти** – сполуки, які утворюються в процесі обміну речовин живої клітини.
- Метаболізм** – процес обміну речовин у живому організмі (сукупність біохімічних реакцій перетворення хімічних сполук у живому організмі).
- Мікробний синтез** – синтез корисних речовин за допомогою маси мікробних клітин.
- Моноклональні антитіла** - специфічні за структурою антитіла, які синтезовані на основі мієломних (пухлинних) клітин та імунних В-лімфоцитів; утворюють антитіла, що спрямовані на чужорідний антиген.
- Мутагени** – фактори (фізичні, фізико-хімічні, хімічні, біологічні), які здатні викликати мутації.
- Мутація** – природні або ті, що викликаються мутагенами (індуковані) зміни спадкових властивостей організму (його генотипу), які виникають в результаті перебудов або порушень у генетичному матеріалі організму, спадкова мінливість.
- Накопичувальна культура** – це культура, яка складається переважно з мікроорганізмів одного виду.
- Пастеризація** – процес знищення у живильних середовищах, продуктах безспорових бактерій шляхом тривалого (20-30 хв.) одноразового нагрівання у температурному режимі менше  $100^{\circ}\text{C}$  ( $60-70^{\circ}\text{C}$ ).
- Поживне середовище (субстрат)** – джерело живлення та енергії для біооб'єктів-продуцентів, що вміщує необхідний набір різних хімічних елементів, які беруть участь в обміні між клітинами мікроорганізмів та середовищем.

- Поживні середовища елективні** – вибірккові середовища, які забезпечують переважний розвиток необхідної групи мікроорганізмів.
- Прокаріоти** – доядерні організми (бактерії та синьо-зелені водорості), клітини яких не мають зформованого ядра, а мають ядерний еквівалент (нуклеоїд – кільцеву замкнену молекулу ДНК).
- Протопласт** – вміст клітини (цитоплазма, органели) без клітинної мембрани.
- Селекція** – процес виведення нових та покращення існуючих сортів рослин, порід тварин та штамів мікроорганізмів шляхом штучного мутагенезу, відбору, гібридизації, генної та клітинної інженерії.
- Сепарація** – процес відділення біомаси від культуральної рідини (розподілення на складові частини).
- Стерилізація** – процес повного знищення у живильних середовищах, посуді, сухих матеріалах, у біореакторах живих мікроорганізмів та їх спочиваючих форм (спор) в умовах високих температур 100-120<sup>0</sup>С, надлишкового тиску, за часом (20-45 хв.).
- Суспензія** – суміш двох (або більше) речовин, з яких одне (тверде) розподілено у вигляді дрібних частинок у другому (в рідині) в завислому стані.
- Ультрафільтрація** – надфільтрація, метод відділення біомаси від культуральної рідини на мембранних фільтрах з визначеним розміром.
- Фаги** – неклітинні форми життя, ультрамікроби, які здатні розмножуватися та викликати за допомогою літичних ферментів лізис (розчинення) клітин живих організмів.
- Ферменти** – біологічні каталізатори, за хімічною природою – білки, обов'язково присутні в усіх клітинах живих організмів, прискорюють швидкість біохімічних реакцій.
- Фільтрація** – процес відділення нерозчинених речовин (біомаси) від рідини, в якій вони знаходяться, шляхом пропускання крізь пористу поверхню.
- Флотація** – один з способів виділення біомаси від культуральної рідини, який оснований на різній здатності до змочування водою частинок речовин (біомаса випадає до осаду або зпливає на поверхню).
- Чиста культура** – культура мікроорганізмів одного виду.
- Штам** – культура одного й того ж виду, яка виділена з різних субстратів та відрізняється незначними змінами властивостей.

## ЗМІСТ

|   |    |
|---|----|
| ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ.....   | 3  |
| ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1.<br>Правила техніки безпеки у біотехнологічній лабораторії. Лабораторний посуд .....   | 4  |
| ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2.<br>Загальна характеристика продуцентів, що застосовуються у біотехнології. Віруси і бактеріофаги як біопродуценти біотехнологічних виробництв ..... | 7  |
| ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3.<br>Сучасні методи мікроскопічного дослідження мікроорганізмів-продуцентів.....  | 16 |
| ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4.<br>Гриби, водорості та лишайники як біопродуценти біотехнологічних процесів .....   | 21 |
| ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5.<br>Найпростіші та черв'яки як біопродуценти біотехнологічних процесів .....   | 26 |
| ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 6.<br>Основні види поживних середовищ, що використовуються у біотехнології .....   | 29 |
| ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 7.<br>Сучасні методи мікроскопічного дослідження мікроорганізмів-продуцентів.....  | 33 |
| ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 8.<br>Методи одержання культур мікроорганізмів .....   | 37 |
| ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 9.<br>Системи лабораторних та промислових біореакторів, їх призначення.....  | 42 |
| РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА.....   | 46 |
| ГЛОСАРІЙ ОСНОВНИХ ТЕРМІНІВ БІОТЕХНОЛОГІЧНОЇ ГАЛУЗІ .....  | 47 |

**КЛІМКІНА** Ірина Іванівна  
**ФЕДОТОВ** В'ячеслав Вікторович

**МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ДО ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ  
РОБІТ З ДИСЦИПЛІНИ «БІОТЕХНОЛОГІЇ В ЕКОЛОГІЇ»**  
для студентів спеціальностей 091 «Біологія», 101 «Екологія» та  
183 «Технології захисту навколишнього середовища»

Друкується в редакційній обробці авторів

Національний технічний університет «Дніпровська політехніка»  
49005, м. Дніпро, просп. Д. Яворницького, 19