



Національний університет
водного господарства та природокористування

Міністерство освіти і науки України
національний університет водного господарства та
природокористування
Навчально-науковий інститут агроекології і землеустрою
Кафедра екології, технології захисту навколишнього
середовища та лісового господарства

05-02-311М

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

для виконання практичних робіт з навчальної дисципліни
«Біотехнології» для здобувачів вищої освіти другого
(магістерського) рівня за освітньо-професійною програмою
«Екологія» спеціальності 101 «Екологія», за освітньо-
професійною програмою «Технології захисту навколишнього
середовища» спеціальності 183 «Технології захисту
навколишнього середовища» денної і заочної форм навчання

Рекомендовано науково-
методичною радою ННІ
агроекології та землеустрою
Протокол № 1 від 8 вересня 2020 р.

Рівне – 2020

Методичні вказівки для виконання практичних робіт з навчальної дисципліни «Біотехнології» для здобувачів вищої освіти другого (магістерського) рівня за освітньо-професійною програмою «Екологія» спеціальності 101 «Екологія», за освітньо-професійною програмою «Технології захисту навколишнього середовища» спеціальності 183 «Технології захисту навколишнього середовища» денної і заочної форм навчання [Електронне видання] / Клименко М. О., Каськів М. В. – Рівне : НУВГП, 2020. – 41 с.

Укладачі:

Клименко М. О., д. с.-г. н., професор, зав. кафедри екології, технології захисту навколишнього середовища та лісового господарства;

Каськів М. В., к. б. н., доцент кафедри екології, технології захисту навколишнього середовища та лісового господарства.

Відповідальний за випуск: Клименко М. О., доктор сільськогосподарських наук, професор, завідувач кафедри екології, технології захисту навколишнього середовища та лісового господарства.

Керівник групи забезпечення спеціальності 101 «Екологія»

Бедункова О. О.

Керівник групи забезпечення спеціальності 183 «Технології захисту навколишнього середовища»

Прищепя А. М.

© Клименко М. О., Каськів М. В., 2020

© Національний університет водного господарства та природокористування, 2020



ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ.....	4
ПРАКТИЧНА РОБОТА 1.....	5
ПРАКТИЧНА РОБОТА 2.....	10
ПРАКТИЧНА РОБОТА 3.....	14
ПРАКТИЧНА РОБОТА 4.....	16
ПРАКТИЧНА РОБОТА 5.....	19
ПРАКТИЧНА РОБОТА 6.....	24
ПРАКТИЧНА РОБОТА 7.....	32
ПЕРЕЛІК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	38
ГЛОСАРІЙ.....	39





ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

Методичні рекомендації призначені для закріплення теоретичних знань, набутих здобувачами-екологами в лекційному курсі, а також для набуття компетентностей з використання біотехнологій для захисту довкілля.

Методичні рекомендації включають 7 практичних робіт, тексти яких викладено за типовою структурною схемою: тема, мета роботи, подання теоретичних положень за темою, контрольні завдання та запитання.

Послідовність проведення практичних робіт відповідає темам лекційних занять, що сприяє практичному закріпленню теоретичних знань з дисципліни. В результаті виконання практичних робіт здобувачі повинні набути практичні навички з відбору та підготовки проб ґрунтів, води для хімічного, санітарно-бактеріологічного, та інших видів аналізу. Студенти повинні знати загальну характеристику біооб'єктів-продуцентів: віруси, фаги, бактерії, найпростіші, водорості, гриби, вищі рослини, їх особливості

Кожен здобувач вищої освіти повинен знати правила техніки безпеки при роботі у біотехнологічній лабораторії, спеціальні види лабораторного обладнання для проведення біотехнологічного процесу.

Працюючи в лабораторії, кожен здобувач вищої освіти повинен знаходитись на закріпленому за ним робочому місці, стан якого підтримується в чистоті. Виконання дослідів проводити тільки в чистому, сухому лабораторному посуді. При використанні в роботі хімічних реактивів (луг, кислот або солей) їх відбір необхідно проводити за допомогою спеціальних засобів (піпеток, шпательів, мензурок тощо). Роботу із застосуванням електроприладів (фотоколориметр, рН-метр, аналітичні терези тощо) необхідно виконувати під наглядом викладача.



Тема. *Правила техніки безпеки при роботі у біотехнологічній лабораторії. Спеціальні види лабораторного обладнання для проведення біотехнологічного процесу.*

Мета роботи: ознайомитися з правилами техніки безпеки при роботі у біотехнологічній лабораторії; з лабораторним посудом, який застосовується у біотехнологічних дослідженнях, оволодіти основними прийомами роботи з ним.

Матеріали та обладнання: прилади загального та індивідуального користування, різний лабораторний посуд, гумова груша, дистильована вода.

Загальні правила безпечної роботи в лабораторіях під час занять

1. Працювати в лабораторії необхідно в халаті, захищаючи одяг та шкіру від попадання роз'їдаючих реактивів та обсіменіння мікроорганізмами.

2. Кожний студент повинен працювати на закріпленому за ним робочому місці. Перехід на інше місце без дозволу викладача не допускається.

3. Робоче місце слід підтримувати в чистоті, не захаращувати його посудом і побічними речами.

4. Студентам забороняється працювати в лабораторії без присутності викладача або лаборанта, а також у невстановлений час без дозволу викладача.

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

6. Приступаючи до роботи, необхідно: – усвідомити методику роботи, правила її безпечного виконання; – перевірити відповідність взятих речовин тим речовинам, які зазначені в методиці роботи.

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

8. Для виконання дослідів користуватися тільки чистим, сухим лабораторним посудом; для відмірювання кожного

реагентів потрібно мати мірний посуд (піпетку, бюретку, мензурку, мірний циліндр або мірний стакан); не слід виливати надлишок налитого в пробірку реагенту назад у склянку, щоб не забруднити реагент.

9. Якщо у ході досліду потрібне нагрівання реакційної суміші, треба додержуватися передбаченого методичними вказівками способу нагрівання: на водяній бані, на електроплитці або на газовій горілці та ін. Сильно леткі пальні речовини небезпечно нагрівати на відкритому вогні.

10. Пролиті на підлогу та стіл хімічні речовини студенти знешкоджують і прибирають під керівництвом лаборанта (викладача) відповідно до правил.

11. При роботі в лабораторії слід додержуватись наступних вимог: виконувати роботу потрібно охайно, сумлінно, уважно, ощадливо, бути спостережливим, раціонально та правильно використовувати час, відведений для роботи.

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

Правила техніки безпеки при роботі з біологічними матеріалами.

1. Необхідно чітко виконувати інструкції до лабораторних занять.

2. У лабораторії забороняється приймати їжу, пити воду.

3. Роботу з біологічним матеріалом проводити тільки інструментами.

4. При випадковому попаданні біологічного матеріалу (особливо мікроорганізмів) на стіл, руки, потрібно провести обробку дезинфекційним розчином (наприклад, хлораміном).

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

ЛАБОРАТОРНИЙ ПОСУД

Всі роботи у лабораторіях здійснюються з використанням різного посуду або приладів. Набір посуду залежить від характеру роботи, що проводиться.

Хімічний посуд виготовляють з особливих сортів скла, яке відзначається хімічною стійкістю або термостійкістю, окремі види посуду виготовляють із кварцу, який має високу температуру плавлення (біля 1700-1800°C). Крім того, у хімічних лабораторіях застосовують посуд з фарфору, різних вогнестійких матеріалів або прозорих пластмас.

Скляний хімічний посуд є найбільш поширеним та підрозділяється на три основних групи:

- посуд загального призначення – застосовується в будь-якій хімічній лабораторії для різноманітних цілей;
- посуд спеціального призначення – використовується з будь-якою однією метою;
- мірний посуд, призначений для відмірювання точних об'ємів рідин, розчинів та газів.

До посуду загального призначення відносяться: пробірки, хімічні лійки, хімічні стакани, плоскодонні (круглі) колби, конічні колби (Ерленмейєра), крапельниці, скляні холодильники (рис 1). Посуд спеціального призначення застосовується в особливих дослідних роботах, органічних та неорганічних синтезах.



Рис. 1.1 Посуд спеціального призначення:

1 - хімічний стакан; 2 - круглодонна колба; 3 - конічна колба; 4 - пробірка; 5 - пробка з газовивідною трубкою; 6 - піпетка; 7 - мірний циліндр; 8 - спиртовий пальник; 9 - лійка; 10 - скляна банка для зберігання реактивів; 11 - шпатель; 12 - скельце; 13 - терези; 14 - штатив для пробірок; 15 - ложка для

спалювання речовин; 16 - тримач для пробірок; 17 - ступка з товкачиком; 18 - термометр; 19 - тигельні щипці; 20 - порцеляновий трикутник; 21 – скляна паличка; 22 - кристалізатор; 23 - триніг; 24 - промивалка; 25 - порцелянова чашка

До нього відносяться, наприклад, чашка Петрі, коливальна колба, фарфорова ступка з товкачиком та ін. Мірний посуд застосовується для відмірювання об'ємів рідин: мірні циліндри, піпетки, бюретки, мірні колби та стакани.

Завдання: вивчити основні правила техніки безпеки при роботі в біотехнологічній лабораторії. Зарисувати та вивчити функціональні принципи роботи спеціальних видів лабораторного посуду, обладнання для проведення біотехнологічного процесу.

Студент повинен знати!!!! ПРО НАДАННЯ ПЕРШОЇ ДОПОМОГИ

При виникненні пожежі в лабораторії необхідно негайно виключити газ та нагрівальні прилади, прибрати легкозаймисті рідини, вогонь засипати піском або накрити вовняною ковдрою, шматком азбесту, рушником або залити тетрахлорометаном. Великий вогонь гасять за допомогою вогнегасника. Не можна задувати палаючу рідину або заливати її водою. Якщо на людині палає одяг, її треба швидко закутати в ковдру, халат або покласти на підлогу і перекочуючи збивати полум'я. Якщо загорілися дерев'яні предмети, полум'я гасять водою або вогнегасником.

Під час роботи в хімічній лабораторії найбільш можливими є порізи склом, опіки термічні та хімічні, а також інгаляційне ураження парами токсичних речовин.

У всіх лабораторіях у доступному постійному місці має бути аптечка з набором необхідних матеріалів і медикаментів. Всі працівники в лабораторії повинні бути обізнані з правилами надання першої медичної допомоги. В аптечці лабораторії необхідно мати стерильні бинти та вату, 5 %-ий спиртовий

розчин йоду, 2 %-ий розчин гідрокарбонату натрію, мазь від опіків, лейкопластир, 2 %-ий розчин калій манганату(VII) $KMnO_4$, 2 %-ий розчин оцтової кислоти, 2 %-ий розчин борної кислоти, етанол, піпетки для очей, скляні палички та ножиці.

При теплових опіках роблять примочку з розчином 2 %-го калій манганату(VII) $KMnO_4$ або етанолу C_2H_5OH , а потім наносять мазь від опіків.

При хімічних опіках шкіри необхідно насамперед видалити речовину, що викликала опік, відповідним розчинником, а потім уражену ділянку обробити етиловим спиртом і змазати маззю від опіків.

При опіках кислотами ушкоджене місце обмивають водою з крану, а потім 3%-им розчином натрій гідроген карбонату (питної соди); при *опіках їдкими лугами* – водою, а потім 2%-им розчином оцтової або борної кислоти і знову водою.

При опіках очей кислотою необхідно промити їх великою кількістю води, потім обробити тампоном, змоченим у розчині питної соди(3%-му), і знову змити водою; при *опіках очей лугом* – промити їх великою кількістю води, потім обробити тампоном, змоченим у 2 %-му розчині борної кислоти, і знову промити водою. Після цього необхідно звернутись до лікаря.

При опіках бромом ушкоджене місце необхідно швидко промити спиртом та змастити маззю від опіків.

У випадку опіку фенолом ушкоджене місце розтирають гліцеролом до відновлення природного кольору шкіри, потім промивають водою і накладають пов'язку з марлі, що змочена у розчині гліцеролу.

При порізах склом у першу чергу необхідно пінцетом, попередньо промитим спиртом, видалити з рани видимі шматочки скла, рану промити дистильованою водою або протерти тампоном, змоченим в етиловому спирті, а далі змастити 5 %-им розчином йоду та забинтувати. Невеликі порізи можна заклеїти антисептичним пластиром.

При ураженні електрострумом насамперед необхідно відключити електроенергію, а потім, якщо необхідно, зробити штучне дихання та викликати швидку допомогу.

При вдиханні галогенів, галогеноводнів та оксидів Нітрогену потрібно вдихнути спирт або понюхати 5%-ий розчин амоніаку, а потім вийти на свіже повітря. При інгаляційних поразках потрібно негайно вийти на свіже повітря.

Для засвоєння теми лекції пропонуються для самоперевірки наступні контрольні питання.

1. Сучасне визначення біотехнології.
2. Історичні передумови виникнення біотехнології.
3. Основні продукти біотехнології.
4. Галузі використання біотехнології.
5. Етап організації промислового виробництва антибіотиків.
6. Сучасний етап розвитку біотехнології.
7. Розвиток біотехнології в Україні.
8. Проблеми біотехнології.
9. Першорядні завдання біотехнології.

Практична робота № 2

Тема: *Загальна характеристика біооб'єктів-продуцентів: віруси, фаги, бактерії, найпростіші, водорості, гриби, вищі рослини, їх особливості*

Мета заняття: ознайомитися з різними видами мікроорганізмів, які беруть участь у біотехнологічних процесах.

Матеріали та обладнання: суспензія добової культури дріжджів, плісняві гриби, наочні препарати сухих та законсервованих шапкових грибів, водорості у пробах озера Басів Кут (мікроцистіс, хлорела, хара), живі лишайники; застійна вода (мул), яка містить найпростіші (Protozoa); мікроскоп Ломо Біолам, препарувальна голка, предметні і покривні скельця, пінцет

Основні поняття

Об'єктами біотехнології є віруси, фаги, бактерії, гриби (мікро- і макроміцети), водорості, протозойні організми (найпростіші), черв'яки, клітини (тканини) рослин, тварин, людини.

Успіхи останнім часом значною мірою стали можливими завдяки застосуванню порівняно простих (а тому доступних широкому колу експериментаторів), відтворених і результативних методів, де як об'єкти дослідження широко використовуються бактерії, нижчі гриби і бактеріофаги. При цьому мікробні клітини і фаги розмножуються *in vitro* на агаровому середовищі, утворюючи відповідно колонії і бляшки, які являють собою потомство однієї особи (мікробної клітини чи вірусної частки). Більшість живих об'єктів біотехнології складають мікроорганізми, які відносяться до 3-х надцарств: без'ядерні (акаріоти), доядерні (прокаріоти), ядерні (еукаріоти); 6-ти Царств: віруси, бактерії, архебактерії, рослини, тварини, гриби (рис.2. 1).




БІООБ'ЄКТИ-ПРОДУЦЕНТИ			
РІВНІ ОРГАНІЗАЦІЇ			
Організмений			Надорганізмений <ul style="list-style-type: none"> ✚ біомолекули ✚ органи ✚ продукти метаболізму ✚ клітини організмів ✚ тканини організмів
КЛІТИННІ ОРГАНІЗМИ	НЕКЛІТИННІ ОРГАНІЗМИ		
НАДЦАРСТВА			
ПРОКАРІОТИ	ЕУКАРІОТИ	АКАРІОТИ	
 БАКТЕРІЇ	 ЦАРСТВА РОСЛИНИ ГРИБИ ТВАРИНИ	 ВІРУСИ	

Рис. 2.1 Характеристика біооб'єктів-продуцентів за рівнями організації

Перевага мікроорганізмів, як об'єктів біотехнології, полягає в наступному:

- малі розміри (морфологічні особливості);
- активність (висока швидкість росту на живильних середовищах);
- простота геному;
- гнучкість “обміну речовин”;
- здатність добре пристосовуватися до умов зовнішнього середовища (екологічний фактор).

Продуценти – організми, які продукують органічні речовини із неорганічних сполук, які здатні до фото-

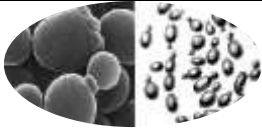



або хемосинтезу. Різноманітні галузі застосування біотехнологічної продукції базуються на основі біооб'єктів – її продуцентів

Вірусів медицині	у	<ul style="list-style-type: none"> розробка вакцин, біопрепаратів для створення штучного імунітету; у фармацевтичній промисловості: розробка діагностикумів, вакцин, векторів на основі ДНК-вмісних вірусів рослин;
Бактерій		отримання кормового білка на різних субстратах, біогазу, одержання вітамінів (В2, В12), гормонів, ферментів, органічних кислот;
Грибів		одержання амілолітичних, ліполітичних ферментів, вітамінів (каротину, D, С), харчового білка, при виготовленні сирів; 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;
Найпростіших		як складова частина активного мулу при очищенні водоймищ та стічних вод, в якості тест-індикаторів;
Черв'яків		для одержання біогумусу (як добрива), біогумату (фітогормонів).

Хід роботи

Виготовити тимчасові препарати і розглянути за допомогою мікроскопічного методу представників різних груп мікроорганізмів:

1.		Замалювати.	Описати.
	Пліснявих грибів <i>Aspergillus</i>		

2.	національний університет водного господарства та гірського будівництва Дріжджових клітин Mucor		
3.	Водоростей: Microcistis, Chara;		
4.	Найпростіших		
5.	Лишайників		

Завдання. Описати, відобразити рисунки та їх підписи з визначенням основних структурних (морфологічних) компонентів об'єктів біотехнології. Визначити зв'язок морфологічних особливостей мікроорганізмів з речовинами, які вони продукують, їх використання у біотехнології. Скласти таблицю, яка характеризує ці особливості (зразок схеми пропонується).

Для засвоєння теми лекції «Загальна характеристика біооб'єктів-продуцентів: віруси, фаги, бактерії, найпростіші, водорості, гриби, вищі рослини, їх особливості» студентам пропонуються для самоперевірки наступні контрольні питання:

1. Поняття про мікроорганізми, їх значення у природі.
2. Еукаріоти та прокаріоти.
3. Історія відкриття мікроорганізмів.

4. Різноманітність мікроорганізмів: віруси, фаги, бактерії, водорості, гриби, найпростіші.

5. Значення мікроорганізмів для розвитку біотехнологічних наук.

Практична робота № 3

Тема: *Біологічне видалення азоту з осаду стічних вод*

Мета: навчання студентів діяльності біотехнолога, виходячи зі знань основ генетичної інженерії, знати методи очищення стічних вод.

Матеріали і обладнання: зразки стічних вод комунального призначення, міні-біофільтр, оцтова кислота, етанол.

Основні поняття

Небажаним наслідком господарської діяльності людини стало порушення природної рівноваги в багатьох водоймищах та погіршення в них якості води. Промислові й побутові стоки, що потрапляють у природні об'єкти, характеризуються високим рівнем вмісту забруднювальних речовин, значною кількістю токсикантів. За таких обставин самостійне відновлення водних джерел стає неможливим. І тут виникає нагальна необхідність у розробці й застосуванні сучасних екологічно безпечних, ефективних методів очищення стічних вод, особливо тих, що повертаються у водні об'єкти, і тих, які підлягають вторинному використанню.

Підвищення ефективності очищення стічних вод на основі застосування нових технологій, наразі їх екологічне обґрунтування набуває актуальності. Однак, цей процес у його теперішньому стані дозволяє руйнувати тільки відносно прості органічні й амонійні з'єднання. Неорганічні з'єднання, токсини, комплексні з'єднання і складні органічні сполуки (які також можуть бути токсичними) зв'язуються з біомасою, частково руйнуються, але ступінь очищення від них набагато нижче. Одними з найновіших у сфері очищення стічних вод є екологічні методи, що полягають у застосуванні на ставках-відстійниках біологічного способу очищення стічних вод з

використанням вищої водної рослинності (ВВР). Відомо багато рослин, які очищують воду в болотах, ставках і озерах. Це – ряска, очерет тощо. Ці рослини справді можуть існувати в якості «біофільтру» і застосовуватися для очистки стічних вод різних господарських об'єктів.



Рис. 3.1. Ряска (лат. *Lemna*), Очерет (лат. *Phragmites*)

Процес очищення стічних вод може здійснюватися за допомогою звичайних очисних споруджень (аеротенк, біофільтр), штучно іммобілізовано біомаси за допомогою іммобілізованих ферментів. Успіхи в створенні і використанні нових видів біомаси і ферментів допоможуть вирішити багато складних проблем. Інша область, у якій успіхи біотехнології будуть сприяти поліпшенню очищення стічних вод, – це видалення важких металів.

Хід роботи:

Біологічне видалення азоту відбувається у чотири етапи:

1 етап – амоніфікація;

2 етап – мікробіологічна нітрифікація іонів амонію до нітритів (*Nitrosomonas*);

3 етап – мікробіологічне окислення нітритів до нітратів (*Nitrobacter*);

4 етап – денітрифікація нітратів до молекулярного азоту.

Чисельність нітрифікуючи бактерій росте повільніше, ніж гетеротрофів та денітрифікаторів. Із зменшенням навантаження на очисні споруди вік активного мулу збільшується, а чисельність нітрифікаторів росте. Їх активність найбільш висока за умов рН середовища в інтервалі від 7,5 до 8,5. У більш

кислому чи лужному середовищі процес нітрифікації призупиняється.

1. Збільшення показника рН менш впливає на перший етап нітрифікації. В такому випадку який продукт починає накопичуватись у середовищі? Чому?

2. За даними таблиці 3.1 побудувати графік температурної залежності швидкості денітрифікації нітрат іонів у стічних водах.

Таблиця 3.1.

Швидкість денітрифікації за різних температурних показників

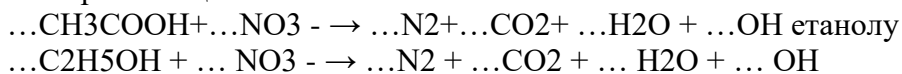
T ⁰ C	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
V _{дн} (T)	0,03	0,03	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,05	0,06	0,06	0,07
T ⁰ C	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
V _{дн} (T)	0,07	0,08	0,08	0,09	0,10	0,11	0,12	0,13	0,14	0,15	0,17
T ⁰ C	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
V _{дн} (T)	0,17	0,18	0,20	0,21	0,23	0,25	0,28	0,30	0,33	0,36	0,39

Вказати, якою функцією можна описати отриману емпіричну залежність. Визначте швидкість денітрифікації за температурою 200 C.

Пояснити, чому за умов зниження температури більш як на 15⁰C відбувається зменшення швидкості відновлення нітриту?

3. Чому для деградації толуолу, ксилолу, хлорфенолу нітратами необхідна низька концентрація кисню у воді?

4. Відновити реакцію денітрифікації органічних речовин бактеріями: оцтової кислоти



5. Який етап біологічного видалення азоту описують наведені вище рівняння?

6. Зробити висновки.

Практична робота № 4

Тема: Оцінка якості бджолиного меду

Мета роботи: набуття навичок у використанні меду, як екологічного індикатора стану забруднення навколишнього середовища.

Матеріали і обладнання: пробірки, мірні циліндри на 10 мл, скляні палички, ложечки, шпателі, хімічний олівець, фільтр, папір, лійки, предметні стекла і покривні скельця, мікроскоп, проби меду, дистильована вода, 5%-й розчин йоду, ацетатна та хлоридна кислоти, етанол, розчин AgNO_3 $C = 0,1$ моль/л; діетиловий ефір; 1%-й розчин резорцину; розчин гліцерину з желатином, основний фуксин, 10%-й розчин меду.

Основні поняття

В умовах загострення екологічної ситуації актуальною є проблема об'єктивної оцінки рівня забруднення території радіонуклідами, пестицидами та важкими металами. Основними джерелами забруднення навколишнього природного середовища є розвиток промисловості, стаціонарні та пересувні джерела, інтенсифікація сільськогосподарського виробництва, комунальні відходи.

Зручним об'єктом для біоіндикації навколишнього природного середовища можуть слугувати бджоли та продукти бджільництва. Бджолина сім'я, збираючи сировину для своїх продуктів на ділянці площею 12-28 км², акумулює і несе інформацію про стан території в радіусі до 3 км навколо вулика.

Мед є продуктом переробки бджолами нектару квіткових рослин. Нектар містить воду, фруктозу, глюкозу, невелику кількість органічних кислот, ефірних олій, азотовмісних сполук, мінеральних речовин, тощо. Цей продукт використовують з лікувальною метою, оскільки в ньому гинуть дизентерійна та кишкова палички, стрептококи і стафілококи. Мед істотно може відрізнитися за такими властивостями як густина, колір, запах, смак.

Досить поширеним явищем є фальсифікація меду, тому необхідно вміти визначати його якість та біологічну активність.

Хід роботи:

1. Визначити механічні домішки меду. У пробірку налити 2 мл меду, долити 5 мл дистильованої води. Мед розчиняється, а домішки осідають на дно або спливають на поверхню.

2. Визначити домішки борошна або крохмалю. У пробірку до 2 мл меду і 5 мл дистильованої води додати розчин йоду. За наявності домішок борошна чи крохмалю розчин забарвлюється в синій колір.

3. Виконати якісну реакцію на оксиметилфурфурол.

Вміст оксиметилфурфуролу характеризує натуральність меду і ступінь збереження ним своїх якостей при зберіганні і переробки. Оксиметилфурфурол утворюється під час нагрівання меду при температурі 550С або при тривалому зберіганні меду в кімнатних умовах, особливо в алюмінієвій тарі, що пояснюється частковим розкладом і наявністю глюкози. Метод заснований на утворенні в кислому середовищі сполуки оксиметилфурфуролу з резорцином, забарвленої в вишнево-червоний колір.

Порядок виконання роботи:

1) в сухій фарфоровій ступці ретельно перемішати протягом 2-3 хвилин близько 3 г меду і 15 см³ ефіру;

2) ефірну витяжку перенести в суху фарфорову чашку;

3) в ступку додати нову порцію ефіру і повторити перемішування;

4) ефірні витяжки поєднати і дати ефіру випаруватися під витяжкою при температурі не вище 300 С;

5) до залишку додати 2-3 краплі розчину резорцину. Поява рожевого або оранжевого кольору протягом 5 хвилин свідчить про наявність оксиметилфурфуролу. Швидке зникнення рожевого забарвлення, що з'явилося, до уваги не береться.

4. Визначити домішки крейди. До водного розчину меду додати кілька крапель ацетатної кислоти або оцту. За наявності крейди мед піниться (виділяється CO₂).

5. Визначити домішки крохмальної патоки. До водного розчину меду (1:2 чи 1:3) додати 96%-й етанол. За наявності патоки розчин набуває молочно-білого кольору, а після відстоювання на дні залишається напіврідка маса декстрину. За відсутності патоки розчин стає прозорим, а на межі "мед-спирт" утворюється невелика каламуть, яка при збовтуванні зникає.

6. Визначити домішки цукрового сиропу. До 10%-го розчину меду додають AgNO₃ або ляпіс. Поява білого осаду свідчить про наявність домішок.



Для засвоєння теми лекції «Оцінка якості бджолиного меду» студентам пропонуються для самоперевірки наступні контрольні питання.

1. Види біоіндикатори.
2. Поняття «тест-об'єкт».
3. Апімоніторинг як метод біотестування.

Практична робота № 5

Тема: *Гідробіологічний аналіз біоценозу активного мулу*

Мета: Провести біологічний аналіз активного мулу та біоплівки

Матеріали та обладнання: Мікроскоп біологічний, предметні та покривні скельця, піпетки, пробірки.

Основні поняття

Небажаним наслідком господарської діяльності людини стало порушення природної рівноваги в багатьох водоймищах та погіршення в них якості води. *Промислові й побутові стоки*, що потрапляють у природні об'єкти, характеризуються високим рівнем вмісту забруднювальних речовин, значною кількістю токсикантів. За таких обставин самостійне відновлення водних джерел стає неможливим. І тут виникає нагальна необхідність у розробці й застосуванні сучасних екологічно безпечних, ефективних методів очищення стічних вод, особливо тих, що повертаються у водні об'єкти, і тих, які підлягають вторинному використанню.

Для видалення із стічних вод органічних речовин використовують споруди біологічного очищення: аеротенки, біофільтри, анаеробні біореактори. Постійні спостереження за ходом біологічного очищення води показали, що склад активного мулу та біоплівки свідчить про якість роботи очисних споруд. Аеротенк – резервуар, в якому стічна вода та активний мул насичуються повітрям і перемішуються, внаслідок чого відбувається очищення стічної води.

Активний мул – компактні пластівці, утворені зооглейними скупченнями бактерій, найпростіших, водних грибів, дріжджів і більш високоорганізованих представників фауни: коловерток, черв'яків, личинок комах, які розвиваються в аеробних умовах на частинках органічних забруднень (рис. 5.1).

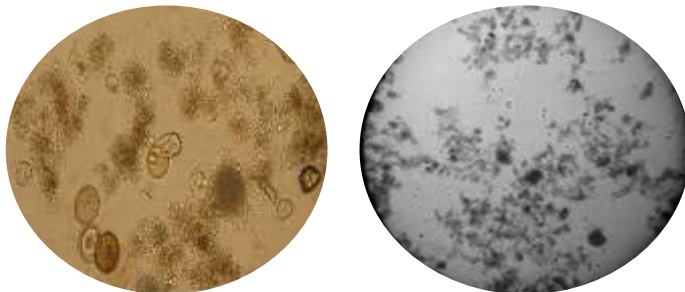


Рис. 5. 1 Активний мул

Головна роль у переробці органічних сполук належить бактеріям. Найпростіші споживають бактерій та тонкодисперсні частинки, чим сприяють освітленню рідини. Інші представники біоценозу також беруть участь в освітленні рідини.

Для нормальної життєдіяльності мікроорганізмів у аеротенк потрібно безперервно подавати повітря (рис. 5. 2).

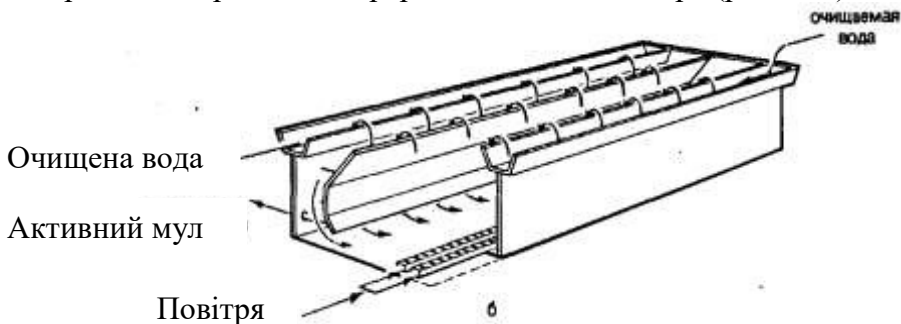


Рис 5.2 Схема очистки стічних вод в аеротенках



Аераційний басейн

Вторинний освітлювач



Рис 5. 3 Схема очистки стічних вод в аеротенках

Активний мул являє собою біоценоз мікроорганізмів-деструкторів і найпростіших, здатних сорбувати на своїй поверхні й окиснювати в присутності кисню органічні речовини стічної води. Для активного мулу характерна висока активна поверхня, що досягає 100 м^2 на 1 г сухої речовини мулу. Домінуюча роль у активному мулі належить різноманітним групам бактерій, здатних не тільки вилучати із води розчинені і завислі частинки, а й самоорганізовуватись у колонії – пластівці, що можна відокремити від води відстоюванням. Бактерії в умовах аеротенків у результаті метаболізму органічних речовин утворюють зооглейні скупчення різноманітної форми і консистенції, зазвичай це компактна або рихла маса.

Показником погіршення мулу є присутність нитчастих форм бактерій, зникнення коловерток, сувійок і поява дрібних аміб. Розвиток у активному мулі нитчастих бактерій спричинює погане осадження мулу при відстоюванні та утворення стійкої піни.

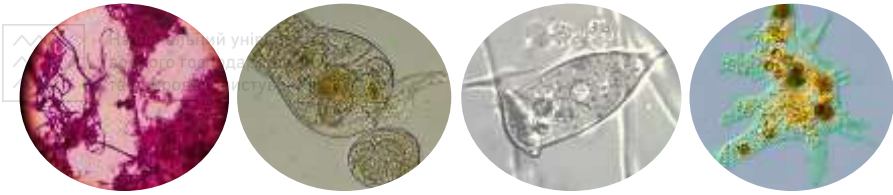


Рис. 5.4. Нитчасті форми бактерій, коловертки, сувійки, амеби

Біоплівка утворюється в процесі обростання поверхонь або спеціального інертного завантаження споруд біологічного очищення. На відміну від активного мулу біоценоз біоплівки має значно більшу різноманітність форм гідробіонтів. При постійному очищенні води в біофільтрі змінюється біоценоз біоплівки та спостерігається зміна зон сапробності.

В біоплівці переважають гриби, різноманітні бактерії, особливо багато нитчастих. З найпростіших мають перевагу безбарвні джгутикові (роди *Oicomonas* та *Vodo*) та вільноплаваючі інфузорії виду рівновійчастих, особливо *Paramecium*, з круглівійчастих інфузорій тільки *Opercularia*.

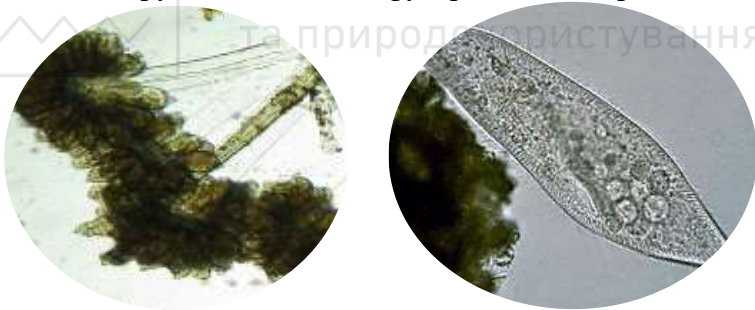


Рис. 5.5 Форми інфузорій *Opercularia*, *Paramecium*

В біофільтрі іноді спостерігаються представники зелених водоростей та джгутикових: *Selensastrum* та *Peranema*. З червів в незначній кількості зустрічаються коловертки та круглі черви.

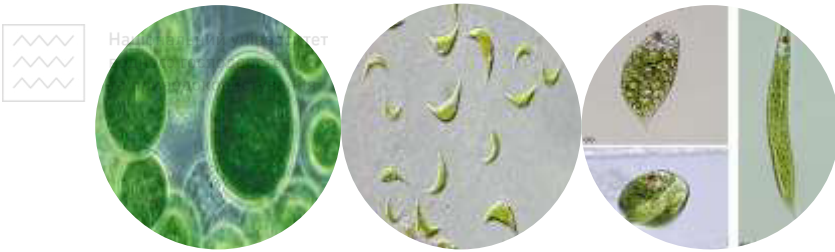


Рис. 5.6 Зелені водорості та джгутикові: *Selensastrum* та *Peranema*

Хід роботи

Відбирання проб для мікроскопування:

а) активний мул.

1. З аеротенка відбирається мулова рідина в пробірку в кількості 7-10 см³. Мул відстоюванням відділяється від рідини (2-3 хвилини) і потім піпеткою з широким отвором відбирається для мікроскопування.

б) біоплівка.

2. З різних горизонтів біофільтра відбирається засипний матеріал (шлак, щебінь, керамзит, волокно та ін.), вміщується в фарфорову чашку і заливається невеликою кількістю дистильованої води. Для мікроскопування біоплівка відбирається піпеткою з широким отвором.

Завдання. Результат біологічного аналізу активного мулу та біоплівки

Швидкість осідання мулу_____. **Колір мулу (бурий, чорний, білуватий тощо)**_____.

Вода над мулом (прозора, каламутна, забарвлена)_____.

Щільність та розмір пластівця (щільний, роздіблений, крупний, дрібний)_____.

Присутність сторонніх краплень_____.

Наявність грибів та нитчастих бактерій_____.

Наявність вільноплаваючих бактерій (багато, мало)_____.

Форми бактерій, які переважають (дрібні палички, крупні палички, спірили і тощо)_____.

Примітка. Щільність та розмір пластівця, присутність сторонніх домішок, наявність грибів ведуть при мікроскопуванні, необхідно продивити не менш ніж 10 полів зору. Кількість організмів оцінюється за п'ятибальною системою хрестиками. Один – поодинокі, два – мало, три – чимало, чотири – багато, п'ять – масовий розвиток. Відмічається також стан організмів, їхня рухливість, робота в'їчастого апарату. На основі отриманих результатів роблять висновки чи задовільний стан роботи аеротенків.

Для засвоєння теми лекції «Гідробіологічний аналіз біоценозу активного мулу» студентам пропонуються для самоперевірки наступні контрольні питання.

1. Назвіть екологічні переваги методів біоочищення стічних вод.
2. Охарактеризуйте принципи біологічного очищення промислових та побутових стічних вод?
3. На яких біотехнологічних процесах базується біоочищення стічних вод?
4. Які речовини-забруднювачі можуть міститись у промислових і побутових стічних водах?
5. Назвіть переважаючих представників гідробіонтів активного мулу.
6. Дати кількісну оцінку розвитку гідробіонтів за п'ятибальною системою.
7. Зробити висновок про стан активного мулу і біоплівки.
8. Як можна охарактеризувати активний мул в різних умовах?
9. Які умови необхідно підтримувати в аеротенку для задовільної роботи споруди?

Практична робота № 6

Тема: *Переробка органічних відходів за допомогою вермикультури.*

Мета: опрацювати методикау переробки органічних відходів з одночасним отриманням компосту за допомогою вермикультури.



Матеріали та обладнання: дощові черв'яки, органічні залишки, контейнери для проведення вермикомпостування.

Національний університет
життєвих та харчових наук
та природокористування

Основні поняття

Біогумус (вермикомпост, червекомпост) – це органічне добриво для рослин, продукт природної переробки гною домашньої худоби і харчових відходів технологічними черв'яками. Цей вид компосту є одним з найефективніших засобів підвищення родючості сільськогосподарських ґрунтів, а його виробництво досить просте і вимагає мінімальних вкладень.

Промислове виробництво біогумусу – це єдиний спосіб швидкого відновлення величезних площ полів, отруєних аміачною водою та іншими шкідливими для ґрунту хімічними добривами і пестицидами. Однак технології отримання біогумусу різні. Як показали експериментальні дослідження в багатьох країнах, з тонни органічного сухого матеріалу при переробці його хробаками утворюється 600 кг гумусного органічного добрива, що містить 20% гумусу і 65-75% зольного залишку, а інші 400 кг перетворюються в 100 кг живих черв'яків і мікробів і енергію їх життєдіяльності.

Отримання біогумусу ґрунтується на здатності дощових черв'яків використовувати органічні рештки, трансформувати їх у кишечнику і виділяти у вигляді копролітів. Однією з головних біологічних особливостей дощових черв'яків є наявність в них особливих незаражувальних ферментів.

Технологія вермикомпостування заснована на харчовій активності дощових черв'яків. Захоплюючи і змішуючи в процесі харчування органічні залишки з мінеральними частинками ґрунту, переварюючи їх і збагачуючи власною мікрофлорою, ферментами, біологічно активними речовинами, дощові черв'яки виробляють копроліти (копрос – випорожнення, літос – камінь) з високим вмістом гумусу, мікро- і макроелементів.

У кишечнику дощових черв'яків відбуваються часткова мінералізація й гуміфікація органічного матеріалу, з'єднання аміаку з лігніном, зміна мінералогічного і гранулометричного

складу, формування гумусових речовин і модифікація мікробоценозів субстратів, які конвертуються.



Рис. 6.1 Конроліти

Перший етап вермикомпостування полягає в приготуванні органомінеральної компостної суміші. В ящики або спеціальні компостери поміщається суміш, що складається з гною великої рогатої худоби, посліду домашніх птахів і харчових відходів. Органічні відходи і наповнювач змішують і зволожують до значення вологості 70-80% (на дотик як мокре полотенце). Відповідно якісний, готовий до поселення черв'яків, субстрат є вологим, однорідним за кольором, температура якого складає 19-22°C, рН близько 7, відносна вологість 80%. Недостатньо просто насипати землі в ящик, заселити черв'яків і чекати їх швидкого розмноження. Грунт, в якому вони живуть, можна розділити на три зони:

Верхній шар – місце харчування. Буде потрібний грунт, збагачений поживними речовинами і органічними залишками.

Середній шар – простір, де мешкає основна маса особин.

Нижній шар – найцінніший. Тут накопичуються продукти переробки ґрунту і похідні життєдіяльності: біогумус і черв'ячний чай.

Другий етап – закладка черв'яків.

На 1 м² субстрату закладається, як правило, 700-1500 черв'яків. При цьому їх потрібно рівномірно розподілити по всій поверхні покладеної суміші. Ящики накриваються темним

нетканним матеріалом, який не пропускає повітря (черв'яки не люблять яскравого світла). Для домашньої верміферми підійдуть різні види черв'яків. Найпопулярніші різновиди описані нище.

Звичайний дощовий черв'як. Місцеві черви, добре пристосовані до середовища проживання, використовують через їх швидкої адаптації до умов закритої ферми в рідному ґрунті. Розмноження почнеться швидше. В умовах вермікультури 1 черв'як відкладає до 70 яєць на рік, з кожного виводиться від 2 до 20 нащадків. Щільність заселення черв'яків досягає в середньому 120 особин /м², а біомаса – 50 г/м² (за маси тіла одного черв'яка 0,5-1,5 г).

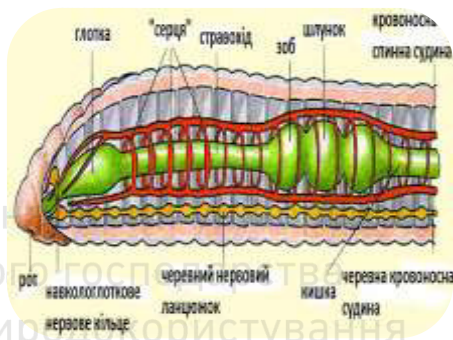


Рис. 6.2 Дощовий черв'як звичайний (*Lumbricus terrestris*)

Тривалість компостування – 1-3 місяці, в залежності від виду органічних відходів.

На **третьому етапі** дощові черв'яки відокремлюються від субстрату, вермікомпост висушується та використовується при цьому біомаса черв'яків теж використовується як цінна кормова добавка. Під час риття ходів за добу черв'як пропускає через себе кількість ґрунту (відходів), що дорівнює його масі. При активній діяльності в році близько 200 днів загальна кількість переробленої маси складе 400-600 т/га. При переробці маси ґрунту черв'яки не тільки інтенсифікують процеси розкладання органіки, а й вибірково впливають на мікрофлору. Виділені ними антибіотики мають здатність негативно впливати на патогенну мікрофлору. Органічна маса, в якій мешкають дощові черв'яки, втрачає неприємний запах розкладання відходів,

зnezаражується, стає гранульованою і грудкуватою, і набуває приємний запах землі.

З досвіду фахівців біотехнології відомо, що органічна речовина, яка підлягає вермикультивуванню, повинна містити легкозасвоювані вуглеводи та клітковину у кількості не менше 20-25%. Опале листя містить значну кількість біополімерів, зокрема вуглеводів (клітковина, легкозброджувані вуглеводи, крохмаль та інші біологічно активні речовини), які можуть слугувати поживним середовищем. Одним із напрямків роботи щодо утилізації опалого листя є використання його як складової частини поживного середовища для вермикультивування.

Вермикультура – це популяція земляних черв'яків (vermis - лат. - черв'як) разом із супутніми мікроорганізмами, нижчими грибами, найпростішими, комахами у органічному субстраті, який служить їм середовищем перебування та їжі. У вермикультурі можна використати аборигенні види черв'яків, які поселяються у компості при компостуванні на відкритому ґрунті або селекційовані штами та гібриди черв'яків. В основному, використовують види *Eisenia fetida*, *Lumbricus rubellus*, але і *Lumbricus terrestris* та інші види можна застосувати для мінералізації органічних решток після їх закопування у ґрунт.



Eisenia fetida



Lumbricus rubellus



Lumbricus terrestris

Рис. 6.3 Популяція земляних черв'яків

Черв'яки майже не хворіють. Мікроорганізми знищуються у їхньому травному тракті. Оптимальне значення рН місця проживання 7-7,5 (крайні значення рН 6-8,2). Оптимальна

температура навколишнього середовища: для харчування 20-25°C, для розмноження 12-17°C. При 15 температурі вище 35°C вони гинуть і вище 32° C не харчуються. Їжа повинна пройти попередню ферментацію розкладання і мати приблизно 70-80% вологості. У кишечнику кільчастих черв'яків живуть бактерії, які розкладають целюлозу, в їх екскрементах знаходяться антибіотики.

Матеріали та обладнання: Контейнер для проведення компостування, ніж, лопатки, ґрунт, вермикультура, органічний субстрат.



Рис. 6.4 Контейнери для проведення вермикомпостування

Хід роботи

Кормом для черв'яків є різні органічні відходи з високим вмістом целюлози, які пройшли процес ферментації. Існують такі вимоги до вихідного органічного субстрату (відходів) для одержання якісного корму для черв'яків: вологість 70-80 %, рН 6,8-7,2, достатня кількість целюлози (20-25 %), вміст оксидів заліза не більше 10 %, відсутність твердих частин – металевих, дерев'яних, камінців, скла тощо.



Рис. 6.5 Органічні відходи, які на звалищах негативно впливають на здоров'я людини та навколишнє середовище

Для проведення ферментації 50 г органічних відходів розміщують в ґрунті та засипають шаром землі зверху. В протокол записують масу землі, В умовах доступу води і кисню та під впливом мікроорганізмів-аеробів, які є на субстраті (грибів, актиноміцетів, бактерій), органічні відходи розкладаються.

Надмірну кислотність нейтралізують шляхом додавання необхідної кількості вапна, крейди, дефекату, сланцевої золи, мергелю й інших речовин, які є і одночасно й мінеральними домішками. Високу лужність усувають надмірним поливом.

Для забезпечення достатньої аерації субстрату його ретельно перемішують.



Национальний університет
водного господарства

Рис. 6.6 Компостний черв'як (*Red Wiggler*) як найпоширеніший вид хробаків, що використовується для вермикомпостування

В кожену секцію заселяють приблизно 10 особин однакового розміру ретельно зволожуючи ґрунт, варто пам'ятати, що не можна допускати пересихання тіла черв'яків, адже це може призвести до загибелі особин.



Рис. 6.7 Черви споживають органічні відходи і перетворюють їх на компост

Підтримувати вологість необхідно в межах 70-80%, а вносити органічний субстрат необхідно не рідше ніж один раз на два тижні.

Кожна бригада підбирає своє співвідношення різних видів органічних відходів для дослідження та вносить до лабораторного журналу дату, вид та масу субстрату.

По завершенню вермикомпостування необхідно ретельно перемішати отриманий компост та ґрунт і провести його аналіз.

Для засвоєння теми лекції «Гідробіологічний аналіз біоценозу активного мулу» студентам пропонуються для самоперевірки наступні контрольні питання.

1. Які мікробіологічні особливості компостування органічних відходів?

2. Які біохімічні особливості компостування органічних відходів?

3. З яких основних компонентів складаються рослинні відходи?



4. Які компоненти входять до складу компосту, утвореного з органічних відходів?
5. Які біохімічні перетворення відбуваються в органічних відходах під час компостування та яка динаміка цього процесу?
6. За яких умов відбувається процес компостування органічних відходів?
7. У чому полягає природоохоронний ефект компостування органічних відходів?
8. Який процес називають вермикультивування?
9. Які біооб'єкти беруть участь у процесі вермикультивування?

Практична робота № 7

Тема: *Оцінювання санітарно-мікробіологічного стану доквілля біотехнологічних виробництв.*

Мета: виявлення джерел забруднення повітряного середовища; визначення складу організованих викидів, загальнообмінної вентиляції та неорганізованих викидів виробництва.

Матеріали та обладнання: технологічне обладнання, пробовідбірник інерційного типу, апарат Кротова, Чашка Петрі з поживним середовищем Сабуро.

Основні поняття

Біотехнологічні процеси, як правило, проводять в асептичних умовах. У виробничих умовах де використовують методи біотехнології джерелами мікробів-контамінантів можуть бути ґрунт, вода, повітря, люди та біологічний аерозоль, що супроводжує біотехнологічні виробництва, і є основним джерелом «біологічного фактора». Під біологічним аерозолем розуміють такий аерозоль, в якому дисперсною фазою є частинки, що мають інактивовані або життєздатні клітини мікроорганізмів, продукти їх метаболізму, а також спори мікроорганізмів і пил рослин [8].

Основна потенційна небезпека під час роботи з мікроорганізмами, використовуючи методи біотехнології – це

вдихання їх із повітрям, які є одними з найбільш розповсюдженими, небезпечними та вважається як шкідливий виробничий фактор.

Джерелом мікробів-забруднювачів можуть бути деякі компоненти поживних середовищ наприклад, кукурудзяний екстракт (фаги, дріжджі й ін.). Рослинні віруси часто виявляються в культурах калусних тканин; високу заклопотаність у цьому змісті викликають також культури клітин тваринних тканин і клітин людини, будучи винятково сприятливими середовищами для контамінуючої мікрофлори. Використовуючи мікроорганізми, наприклад, спори актиноміцетів встановлено, що в глибокі відділи легень (альвеоли) можуть потрапляти частинки розміром 0,02–0,2 мкм. Суспензійні мікробні культури легко утворюють аерозоль. Краплі діаметром 0,1 мкм швидко осідають, висихають упродовж 0,4 с, при цьому їх діаметр зменшується, і вони переносяться повітряними потоками. Частинки аерозолу діаметром < 10 мкм затримуються в організмі на 100 %; < 5 мкм – на 20–30 %; < 0,1 мкм – на 60 % [8].

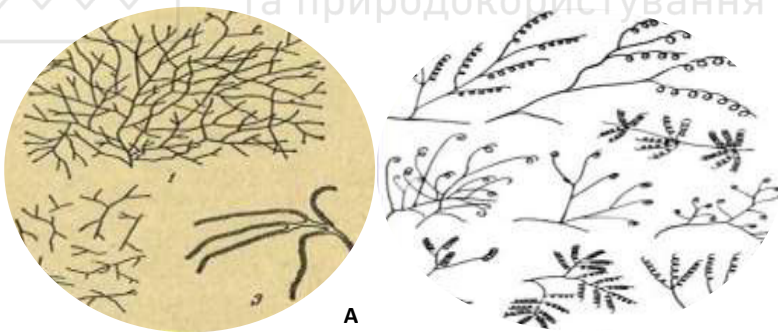


Рис. 7.1 А. Актиноміцети 1, 2 – будова тіла і розмноження; 3 – спора на повітряному міцелії. Б – різноманітні типи актиноміцетів

Повітряне середовище – найнеобхідніша для нашого життя частина довкілля, що впливає на всі процеси життєдіяльності організму людини. Від якості повітряного середовища залежить фізичний розвиток, здоров'я, працездатність людини. Тому під

час санітарно-гігієнічних досліджень повітряного середовища визначають кількість клітин культури-продуцента, загальну забрудненість мікроорганізмами та їх груповий склад, кількість білка, а також уміст інших хімічних речовин.

Оцінювання мікробіологічного стану повітря проводять на підставі динамічних досліджень концентрації мікроорганізмів. Критерієм оцінювання санітарно-мікробіологічного стану повітря робочої зони є гранично допустима концентрація (ГДК), що використовується у виробництві штаму. Тому за результатами контролю обмінення повітря у виробничих приміщеннях та організованих викидах визначають додержання гігієнічних нормативів, ГДК мікробних клітин у повітрі робочої зони, кількісну характеристику ефективності роботи обладнання, що затримує та інактивує мікрофлору. Джерелом забруднення повітря робочої зони мікроорганізмами є технологічне обладнання.



Рис. 7.2 Біотехнологічне обладнання

Так, під час виробництва мікробіологічних засобів захисту, діючим початком якого є гриби та мікроорганізми

спостерігалось значне забруднення повітря робочої зони виробничим штамом. Уже до початку роботи, зазвичай, повітря стає забруднене спорами різних грибів та мікроорганізмів. Упродовж робочого дня концентрація спор грибів та мікроорганізмів в повітрі виробничих приміщень збільшувалася в 5–7 разів, мікробних тіл, виробничий штам – 103 мікробних тіл. Максимальне мікробне забруднення (в основному виробничим штамом) відзначалося у відділенні ферментації і фасування – до 104 мікробних тіл.

Тому метод визначення мікроорганізмів у повітрі робочої зони ґрунтується на підрахунку колоній та є актуальним і потрібним для збереження здоров'я.

Хід роботи

Визначення мікробної контамінації повітря виробничих приміщень біотехнологічних підприємств здійснюють за допомогою пробовідбірників інерційного типу – імпактора або приладу для бактеріологічного аналізу повітря (апарат Кротова). Даний метод ґрунтується на підрахунку колоній, які вирости на агарегованому живильному середовищі при осадженні мікроорганізмів із повітря спеціальними приладами, що уловлюють мікробні аерозолі (наприклад, щілинний апарат Кротова, імпактори та ін.).

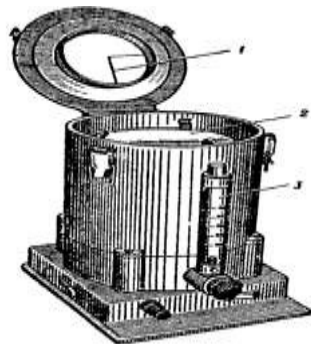


Рис. 7. 3 Апарат кротова; 1 – клиноподібна щілина; 2 – диск, що обертається; 3 – реометр

В основу дії приладів покладений принцип удару струменя повітря об поверхню поживного середовища, що міститься в чашці Петрі, яку з поживним середовищем поміщають на диск приладу, ретельно закривають кришку за допомогою затискачів, встановлених на його корпусі. Прилад включають у мережу, за допомогою реометра встановлюють швидкість руху повітря – 25 л/хв.

Після взяття проби повітря в приміщенні класу чистоти А чашки закривають кришками й поміщають у термостат. Чашки Петрі з МПА витримують в термостаті при $32,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$, з агаром Сабуро – при температурі $22,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$ протягом 5 діб.



Рис. 7.3 Середовище Ендо М'ясо-пептонний агар-агар Сабуро

Розрахунок здійснюють за формулою:

$$X = \frac{a \times 1000}{b},$$

де X – число мікроорганізмів у 1 м^3 повітря;

a – кількість колоній, що виростили на чашці Петрі після терміну інкубації;

b – об'єм досліджуваної проби повітря, приведений до нормальних умов (див. формулу приведення об'єму повітря до нормальних умов для аспіраційного методу нижче);

1000 – коефіцієнт перерахунку л в м^3 . Приведення об'єму взятих проб повітря до нормальних умов, тобто до об'ємів при звичайній температурі і барометричному тиску 760 мм рт. ст., проводять, використовуючи наведену нижче формулу.



Для аспіраційного методу:

Національний університет
водного господарства
та природокористування

$$V_0 = \frac{V \times B}{(1 + \alpha t) \times 760},$$

де V_0 – шуканий об'єм повітря за нормальних умов, л;

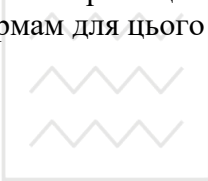
V – об'єм повітря, взятий для аналізу;

B – барометричний тиск, мм рт. ст.;

α – коефіцієнт розширення повітря при нагріванні на 1°C
(0,003667);

t – температура повітря у момент взяття проби повітря.

Висновок. На підставі проведених розрахунків загальної кількості мікроорганізмів у 1 м^3 повітря приміщення класу чистоти А встановлено, що мікробна контамінація повітря даного приміщення відповідає/ або не відповідає допустимим нормам для цього приміщення.



Національний університет
водного господарства
та природокористування



Рекомендована література

1. Біотехнології в екології : навч. посібник / Горова А. І, Лисицька С. М., Павличенко А. В., Скворцова Т. В. Д. : Національний гірничий університет, 2012.
2. Кузнецов А. Е. Научные основы экобиотехнологии М. : Мир, 2006. 504 с.
3. Т.П. Пирог, О.А. Ігнатова. Загальна біотехнологія : підручник. К. : НУХТ, 2009. 336 с.
4. Биотехнология / под ред. И. Хиггинса, Д. Беета, Дж. Джонса. / пер. с англ. М. : Мир, 1988. 480 с.
5. Биотехнология : учеб. пособие для вузов. В 8 кн. / под ред. И. С. Егорова, В. Д. Самуилова. М. : Высш. шк., 1987. Кн. 1. 159 с.
6. Егорова Т. А., Клунова С. М., Живухина Е. А. Основы биотехнологии : учеб. пособие для высш. пед. учеб. завед. / под ред. Т. А. Егорова. М. : издат. центр «Академия», 2003. 208 с.
7. Рогов И. А., Антипова Л. В., Шуваева Г. П. Пищевая биотехнология : в 4 кн. Кн. 1. Основы пищевой биотехнологии. М. : КолосС, 2004. 440 с.
8. Л. Д. Пляцук. Екологічна біотехнологія: принципи створення біотехнологічних виробництв : навчальний посібник. Суми : Сумський державний університет, 2018. 293 с.



ГЛОСАРІЙ

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 CO₂).

Аерація – насичення середовища повітрям, киснем.

Аеробні організми – організми, які є життєздатними тільки в середовищах, що містять незалежний молекулярний кисень.

Анаеробні організми – організми, які є життєздатними у безкисневому середовищі.

Антибіотики – речовини біологічного походження, які здатні знищувати мікроорганізми або пригнічувати їх ріст.

Біотехнологія – сукупність промислових методів, які використовують живі організми та біологічні процеси для виробництва цінних для народного господарства продуктів.

Біотехнологічний процес – промисловий процес, який містить три основні стадії: підбір біооб'єкта; культивування; виділення, очистка та модифікація цільового продукту.

Біотехнологічні продукти – речовини, які утворюються в результаті життєдіяльності об'єктів біотехнології. Біореактор – спеціальні технічні системи, якими оснащуються біотехнологічні процеси та які використовуються для культивування біомаси та синтезу вторинних метаболічних сполук (продуктів обміну).

Біомаса – клітинна маса живих організмів (популяцій, видів, групи видів, суспільств у цілому) в конкретних екологічних умовах.

Біогаз – горючий газ, який одержано з твердих та рідинних відходів, у тому числі з відходів тваринництва, стічних вод тощо, а також при зброджуванні спеціально зрощуваних водоростей або інших 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.

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

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

Еукаріоти – організми (людини, тварини та рослини), клітини яких містять оформлене ядро з двошаровою мембраною та хромосомами.

Живильне 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.

Живильні середовища елективні – вибіркові середовища, які забезпечують переважний розвиток необхідної групи мікроорганізмів.

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

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

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

Калус (callous) – маса недиференційованих клітин, які утворюються при пошкодженні рослини; розвиваються при культивуванні на штучних середовищах одинокої клітини з додаванням стимуляторів росту (фітогормонів).

Клон – група клітин-нащадків (генетично ідентичних), що виникли нестатевим шляхом з однієї клітини.

Кріоконсервація – метод глибокого заморожування клітин з подальшим зберіганням у рідинному азоті (– 1960С) або його парах (– 1500С).

Культуральна рідина – водний розчин залишків живильного середовища та одержаних продуктів біосинтезу після етапу відділення біомаси.

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 у результаті перебудов або порушень у генетичному матеріалі організму, спадкова мінливість.

Прокаріоти – доядерні організми (бактерії та синьо-зелені водорості), клітини яких не мають сформованого ядра, а мають ядерний еквівалент (нуклеоїд – кільцеву замкнену молекулу ДНК).

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 100-1200С, 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.

Фільтрація – процес відділення нерозчинених речовин (біомаси) від рідини, в якій вони знаходяться, шляхом пропускання крізь пористу поверхню.

Флотажія – 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.