Львівський професійний коледж
готельно-туристичного та ресторанного сервісу

ЗАТВЕРДЖУЮ
Заступник директора з НМР
_____ Марія СКОРОБОГАТА
26 серпня 2025 р.

Методичні рекомендації для виконання лабораторних робіт з дисципліни «Мікробіологія і фізіологія»

Спеціальність «Харчові технології»
Освітньо-професійний ступінь фаховий молодший бакалавр
Освітньо-професійна програма «Харчові технології»

Підготувала:
Викладач Прейма Б.М.

Погоджено на засіданні циклової комісії викладачів професійно-теоретичної підготовки та майстрів виробничого навчання технологічного профілю
Протокол № 01 від 26 серпня 2025 р.

Голова циклової комісії _____ Ольга СУХАРИНА

Львів 2025

Пояснювальна записка

Мета

Формування у здобувачів освіти системи знань про мікроорганізми, їх роль у харчових технологіях, фізіологічні процеси клітин та їх вплив на якість і безпечність харчових продуктів.

Завдання

- Ознайомити студентів із морфологією, фізіологією та біохімією мікроорганізмів.
- Сформувати практичні навички роботи з мікробіологічним обладнанням та живильними середовищами.
- Навчити проводити мікробіологічний контроль харчових продуктів.
- Розвинути уміння аналізувати результати лабораторних досліджень та робити висновки.
- Виховати відповідальність за дотримання санітарних норм і правил безпеки у лабораторії.

Очікувані результати

Після виконання лабораторних і семінарських занять студент повинен:

- знати основні властивості та класифікацію мікроорганізмів;
- вміти працювати з мікробіологічним обладнанням;
- проводити дослідження росту та розвитку мікроорганізмів;
- аналізувати отримані результати та робити висновки;

1. Мета лабораторних робіт

- Формування практичних навичок роботи з мікробіологічним обладнанням.
- Ознайомлення з методами виділення, культивування та ідентифікації мікроорганізмів.
- Вивчення фізіологічних процесів у клітинах та їх впливу на харчові технології.
- Розвиток уміння застосовувати теоретичні знання у практичних умовах.

2. Загальні вимоги до виконання

- Дотримання правил техніки безпеки та санітарії у лабораторії.
- Використання спецодягу та засобів індивідуального захисту.
- Ведення лабораторного журналу з чітким оформленням результатів.
- Виконання завдань у визначені терміни.

3. Структура лабораторної роботи

1. **Тема та мета роботи.**

2. **Теоретичні відомості.** Короткий огляд основних понять.

3. **Обладнання та матеріали.** Перелік необхідних інструментів і реактивів.

4. **Хід роботи.** Покроковий опис виконання завдання.

5. **Результати та їх аналіз.** Таблиці, схеми, графіки.

6. **Висновки.** Оцінка отриманих результатів та їх значення для харчових технологій.

4. Методичні поради студентам

- Перед виконанням роботи ознайомитися з теоретичними матеріалами.
- Виконувати завдання чітко за інструкцією.
- Фіксувати всі спостереження у лабораторному журналі.
- Порівнювати результати з нормативними показниками.
- Робити висновки, що мають практичне значення для майбутньої професійної діяльності.

5. Критерії оцінювання

- Повнота та правильність виконання роботи.
- Дотримання правил техніки безпеки.
- Якість оформлення лабораторного журналу.
- Вміння аналізувати результати та робити висновки.
- Самостійність та активність студента під час роботи.

Мікробіологічна лабораторія і правила роботи в ній

Мікробіологічна лабораторія –це комплекс приміщень, обладнання і приладів, які забезпечують роботу з культурами мікроорганізмів. Мікробіологічна лабораторія повинна складатися як мінімум з чотирьох приміщень:

1. Кімната, в якій проводять попередню підготовку матеріалу й обладнання для проведення мікробіологічних дослідів.
2. Кімната для роботи з чистими культурами мікроорганізмів –бокс.
3. Автоклавна –спеціально обладнане приміщення, де проводиться стерилізація матеріалу та живильних середовищ.
4. Мийна кімната.

При виконанні робіт потрібно додержуватися таких правил:

1.У лабораторію заборонено входити у верхньому одязі.
2.Забороняється заносити до лабораторії сторонні речі.
3.У приміщенні лабораторії необхідно підтримувати порядок і чистоту, працювати в халатах.
4.В приміщенні мікробіологічної лабораторії категорично заборонено вживати їжу, зберігати продукти харчування.
5.Робоче місце має бути обладнане усім необхідним для проведення лабораторних занять.

6.У випадках пошкодження посуду з мікробіологічним матеріалом або його витік слід негайно повідомити відповідальну особу і провести заходи для обеззараження забрудненого одягу, частин тіла, предметів робочого місця.
7.Інструменти, які використовувалися в роботі, та поверхню робочого столу необхідно дезінфікувати.
8.Необхідно також пильно слідкувати за чистотою рук по закінченні роботи руки дезінфікуються.
9.Після закінчення занять необхідно навести порядок на робочому місці.

Лабораторна робота № 1

Тема: Будова оптичного мікроскопа. Вивчення морфологічних ознак бактерій, пліснявих грибів і дріжджів
Мета:
Ознайомитися з основними частинами та принципом роботи оптичного мікроскопа.
Навчитися правильно користуватися мікроскопом для спостереження мікроорганізмів.
Засвоїти правила техніки безпеки та санітарні вимоги під час роботи з мікроскопом.
Завдання
Вивчити будову оптичного мікроскопа (тубус, окуляр, об'єктиви, предметний столик, конденсор, дзеркало, гвинти тощо).
1.1 Ознайомитися з системою освітлення та способами регулювання світлового потоку.
1.2.Навчитися правильно встановлювати препарат на предметний столик та фокусувати зображення.
1.3. Відпрацювати прийоми роботи з малим та великим збільшенням.
1.4.Засвоїти правила догляду за мікроскопом після завершення роботи.
Завдання 2. Ознайомитися з морфологією бактерій. Замалювати в зошит бактерій різної
Завдання 3. Ознайомитися з морфологією плісеневих грибів. Замалювати в зошит гриби форми, позначивши.
Завдання 4. Дріжджі
Завдання 5. Порівняйте будову бактерій, грибів, дріжджів, зробіть висновки по роботі.

Теоретична частина

Оптичний мікроскоп — це прилад, який дозволяє збільшувати зображення дрібних об'єктів за допомогою системи лінз та світлового потоку.

- **Принцип роботи:** світло від джерела (дзеркало або лампа) проходить через конденсор, який концентрує його на препараті. Об'єктив збирає промені, що пройшли крізь об'єкт, і формує збільшене зображення. Окуляр додатково збільшує це зображення, яке бачить дослідник.
- **Основні частини:**
    - **Механічна система:** тубус, предметний столик, гвинти для фокусування.
    - **Оптична система:** об'єктиви (різного збільшення), окуляр.
    - **Освітлювальна система:** дзеркало або лампа, конденсор, діафрагма.
- **Збільшення:** загальне збільшення мікроскопа = збільшення об'єктива × збільшення окуляра.
- **Фокусування:** здійснюється за допомогою макро- та мікрогвинтів, що переміщують тубус або предметний столик.

Практична інструкція (крок за кроком)

1.Підготовка робочого місця:

- Переконатися, що мікроскоп чистий і справний.
- Увімкнути освітлювальну систему або налаштувати дзеркало на джерело світла.

2. **Ознайомлення з будовою:**

   - Визначити основні частини мікроскопа (тубус, окуляр, об’єктиви, предметний столик, конденсор, гвинти).

   - Розглянути різні об’єктиви та їх збільшення.

3. **Розміщення препарату:**

   - Покласти предметне скло з препаратом на столик.

   - Закріпити його тримачами.

4. **Налаштування освітлення:**

   - Відрегулювати дзеркало або лампу так, щоб світло рівномірно падало на препарат.

   - Використати конденсор і діафрагму для оптимальної яскравості.

5. **Фокусування з малим збільшенням:**

   - Обрати об’єктив із найменшим збільшенням.

   - Використати макрогвинт для наближення об’єктива до препарату, потім віддалити до появи чіткого зображення.

6. **Фокусування з більшим збільшенням:**

   - Перемкнути на об’єктив із більшим збільшенням.

   - Використати мікрогвинт для точного налаштування різкості.

7. **Спостереження:**

   - Розглянути препарат при різних збільшеннях.

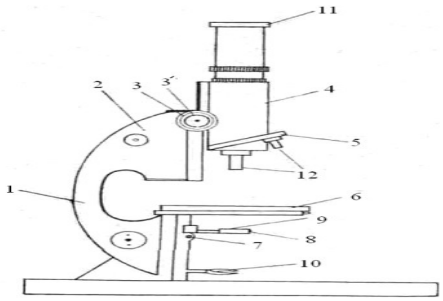
   - Зробити замальовки або записи побаченого.

8. **Завершення роботи:**

   - Зняти препарат зі столика.

   - Встановити найменший об’єктив.

- Вимкнути освітлення.
- Протерти окуляр та об’єктиви спеціальною серветкою.



Малюнок 1

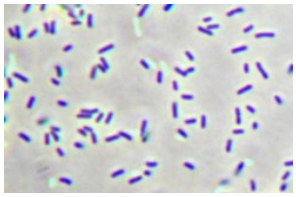
Мікроскоп складається із оптичної і механічної частин.
До складу механічної частини входить (малюнок 1):
штатив - 1, коробка з мікромеханізмом - 2, макро- і мікрометричні гвинти - 3 і 3', тубусоутримувач - 4, револьверна система - 5, предметний столик - 6, гвинт - 7, оправа - 8, конденсор - 9, виделка - 10 для дзеркала.
Ці деталі використовують для кріплення і переміщення оптичних частин мікроскопа.
Макро- і мікрогвинти забезпечують плавне переміщення тубуса в межах 50 мм. Револьверна система має чотири різьбових отвори для кріплення змінних мікрооб'єктів і дозволяє швидко змінювати їх під час мікроскопування. На предметному столику розміщується і закріплюється досліджуваний препарат.
Оптична частина мікроскопа складається із освітлювальної і збільшувальної систем. Освітлювальна система має дзеркало, що кріпиться у виделці - 10 та конденсор - 9 з діафрагмою. Дзеркалом направляють світло на препарат, а конденсором фокусують світлові промені на ньому. Діафрагмою (отвір із змінним діаметром) регулюють світлосилу конденсора (освітлюваність препарату). Збільшувальна система мікроскопа дає можливість отримувати збільшене, обернене і уявне зображення об'єктів. Вона складається із окуляра - 11 і мікрооб'єктива - 12, які розміщуються в тубусі.
Мікрооб'єктив являє собою короткофокусну оптичну систему декількох збірних лінз, а окуляр – декількох довгофокусних лінз.

Завдання 2. Ознайомитися з морфологією бактерій. Замалювати в зошит бактерій різної форми, позначивши:

Будова бактерії:

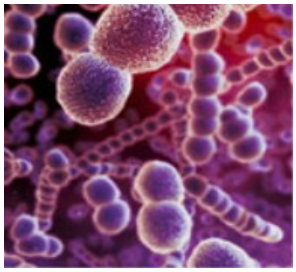
1- плазматична мембрана; 2 - ДНК; 3 – капсула; 4 – клітинна стінка; 5 – рибосоми; 6 – цитоплазма; 7 – джгутик

Малюнок 2. Ціанобактерії (тип бактерій, що отримують необхідну енергію через фотосинтез)



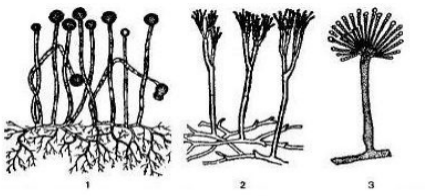
Малюнок 3. Зелені сірчані бактерії(фотосинтезуючі)

Малюнок 4. Пурпурні бактерії (фотосинтезуючі бактерії)

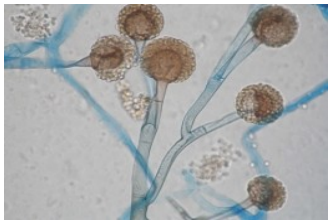


Малюнок 5. Пневмококи (збудники пневмонії, сепсісу, менінгіту)

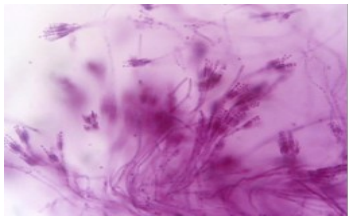
Завдання 3. Ознайомитися з морфологією плісеневих грибів. Замалювати в зошит гриби мукор, пеніцилліум, аспергіліус.



Цвілеві гриби:
1 - мукор; 2 - пеніцил; 3 - аспергіл.



Малюнок 6. Будова мукора під мікроскопом



Малюнок 7. Пеніцілліум

Малюнок 8. Аспергіліус

Завдання 4. Дріжджі - позатаксономічна група одноклітинних грибів, які втратили міцеліальну будову внаслідок переходу до проживання у рідких і напіврідких субстратах, багатих на органічні речовини. позатаксономічна група одноклітинних грибів, які втратили міцеліальну будову внаслідок переходу до проживання у рідких і напіврідких субстратах, багатих на органічні речовини.Ознайомитися з морфологією дріжджів.

Замалювати в зошит дріжджі різної форми:
яйцевидні, еліпсовидні, циліндричні, круглі, шишкоподібні і т.д.:

Намалюйте схему будови клітини дріжджів, позначивши:
1 – ядро; 4 – клітинна оболонка;
2 – вакуоля; 5 – мітохондрія.
3 – цитоплазма;

<u>Завдання 5.</u> Порівняйте будову бактерій, грибів, дріжджів, зробіть висновки по роботі, наприклад такі: в бактеріальній клітині відсутнє ядро, хромосоми не відокремлені від цитоплазми оболонкою ядра, а вільно розміщуються в ній; крім того, в клітині бактерій відсутні ряд органоїдів, ззовні клітинна мембрана оточена клітинною стінкою.

Вкажіть відмінності цвілевих грибів, опрацювавши таблицю, порівняйте

Цвілеві гриби (утворюють цвіль на продуктах харчування чи органічних рештках)		
Мукор	**Пеніцил**	**Аспергіл**
Синьо-зелена пліснява	Біла пліснява	Темно-сіра пліснява
Гіфи розділені на окремі частини з допомогою перегородок. На верхівці формують кулясті конідії.	Гіфи не розділені; спорангії представлені чорними кулястими горошками, в яких містяться спори.	На верхівці формують конідії.

Вказати що в будові дріжджів є відмінним від інших грибів, що вони втратили в процесі еволюції в будові і чому?

3. Методичні вказівки.

1. Вивчаючи будову мікроскопа, продивіться всі його частини. При ознайомленні з прийомами мікроскопування зверніть особливу увагу на прийоми установлення препарату в фокус об`єктива і зміну ступеня освітленості препарату.
2. Для приготування препарату мукор потрібно взяти його чорно-сірий пухнастий повітряний міцелій і накласти обережно покривне скельце, щоб не роздавити спорангії, які містять спори.
3. Для мікроскопування дріжджів готують препарат типу “роздавлена крапля” із культур дріжджів.

Для приготування препарату “роздавлена крапля” на середину предметного скла наносять краплю водопровідної води і вносять в неї небагато досліджуваних мікроорганізмів. Краплю обережно накривають покривним скельцем. Крапля повинна тонким шаром заповнити весь простір між покривним і накривним скельцем, але не виступати за краї покривного скла. Надлишок рідини видаляють фільтрувальним папером.

Контрольні запитання

1. Які основні частини входять до складу оптичного мікроскопа?
2. Яка функція об’єктива та окуляра?
3. Як визначається загальне збільшення мікроскопа?
4. Для чого використовується конденсор і діафрагма?
5. Чим відрізняється макрогвинт від мікрогвинта?
6. Які правила потрібно дотримуватися при роботі з мікроскопом, щоб уникнути його пошкодження?
7. Чому спостереження препарату починають із найменшого збільшення?
8. Які санітарно-гігієнічні вимоги слід виконувати під час роботи з мікроскопом у мікробіологічній лабораторії?

9. Як правильно доглядати за мікроскопом після завершення роботи?

10. Які переваги оптичного мікроскопа порівняно з іншими видами мікроскопів?

11. Дайте визначення поняття мікроорганізми.

12. За допомогою яких тілець розмножуються бактерії?

13. Наведіть приклади.

14. . Що таке симбіоз ? Наведіть приклади.

15. В чому особливість мікрофлори води?

Список використаної літератури:

1. Андрєєва, О. В. *Мікробіологія: навчальний посібник.* — Київ: Видавництво «Аграрна освіта», 2019.
2. Бойчук, Л. В. *Основи мікробіології та вірусології.* — Львів: Світ, 2018.
3. Ковальчук, І. М. *Лабораторні роботи з мікробіології.* — Харків: Основа, 2020.

Посилання на вебресурси:

- **Всеосвіта: Будова мікроскопа (Інтерактивний плакат)** — візуальна схема з детальним описом кожної деталі.
- **На Урок: Віртуальна лабораторія** — тести та додаткові матеріали для перевірки знань про мікроскопічну техніку.
- **YouTube: Правила роботи з мікроскопом** — відеоуроки з демонстрацією налаштування приладу.
- **Mozaik Education (3D-моделі)** — тривимірна модель оптичного мікроскопа для детального вивчення конструкції.

Лабораторна робота № 2

Тема: Вивчення морфологічних та культуральних властивостей дріжджів та міцеліальних грибів

Мета

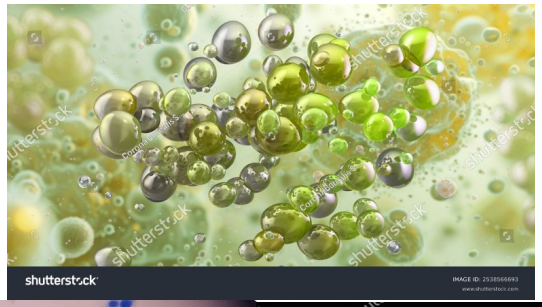
- Ознайомитися з морфологічними особливостями дріжджів та міцеліальних грибів.
- Вивчити культуральні властивості цих мікроорганізмів на різних живильних середовищах.
- Навчитися проводити мікроскопічні дослідження та описувати результати.
- Закріпити теоретичні знання по темі «Міцеліальні гриби» та «Дріжджі».
- Навчитись готувати препарат міцеліальних грибів, знаходити їх в полі зору мікроскопу, вивчити будову і форму міцелію.
- Навчитись готувати препарат дріжджів, знаходити їх в полі зору мікроскопу, вивчити їх будову.

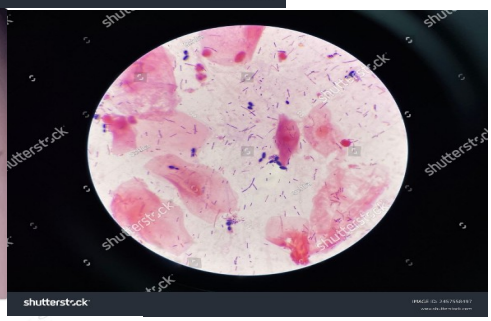
Прилади і матеріали:мікроскопи, предметні і покривні скельця, посівні петлі, спиртівки, фільтрувальний папір, чисті культури дріжджів і цільових грибів.

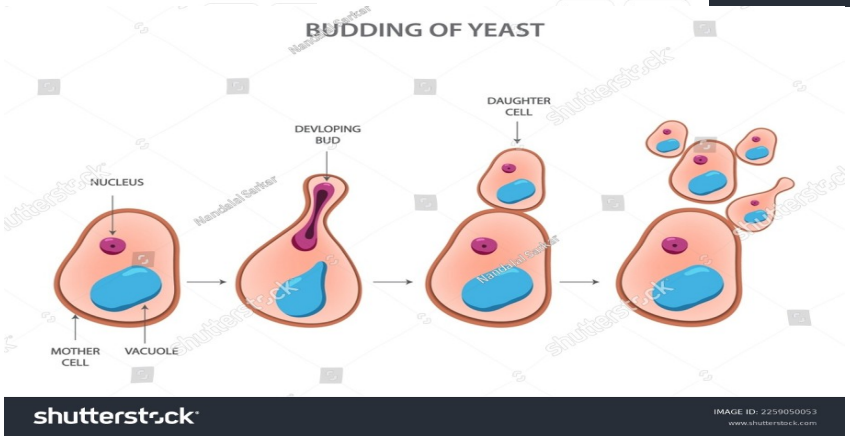
Теоретична частина

- **Дріжджі** — одноклітинні гриби, які розмножуються брунькуванням або спорами.
    - Морфологія: овальні чи округлі клітини, ядро, вакуолі.
    - Культуральні властивості: утворюють кремоподібні колонії на агарі, можуть викликати бродіння цукрів.
- **Міцеліальні гриби** — багатоклітинні організми, тіло яких складається з гіф, що утворюють міцелій.
    - Морфологія: нитчаста будова, наявність септованих або несептованих гіф.
    - Культуральні властивості: пухнасті колонії різного кольору, утворення спороносних структур.

Деякі гриби існують протягом усього або більшої частини життєвого циклу у вигляді окремих клітин –їх називають дріжджами. Вони мають всі основні ознаки грибів. Дріжджі – органотрофи, здебільшого аероби чи факультативні анаероби. У них більш інтенсивно відбувається обмін речовин. Дріжджі швидко ростуть і розмножуються, водночас спричиняючи суттєві зміни в оточуючому середовищі. Завдяки цій властивості дріжджі часто відокремлюють від грибів.
І ІІІ. Будова дріжджової клітини
ІІ. Дріжджові гриби Saccharomycescerevisiae Saccharomyces cerevisiae(фото під мікроскопом)
Форма дріжджових клітин різноманітна: кулеподібна, овальна, циліндрична, лимоноподібна, витягнута, еліпсоподібна, трикутна тощо.







Форми клітин дріжджів Розміри дріжджових клітин коливаються у межах від 1-го до 10-ти мкм, найчастіше –3–7 мкм. Під час утворення міцелію, або витягнутих клітин псевдоміцелію, їхня довжина може сягати 20–30 мкм, водночас ширина клітин залишається постійною. Найбільш широко застосовується в наш час дріжджі Saccharomycescerevisiae. Вони застосовуються у пивоварінні, виноробстві, хлібопеченні, виробництві етилового спирту. Крім спирту у процесі бродіння утворюється велика кількість вуглекислого газу, який має важливе значення для хлібопекарської промисловості, бо саме завдяки йому відбувається піднімання тіста. Вуглекислий газ також використовується для виготовлення шипучих напоїв. Фермент інвертаза із S. Cerevisiae знайшов широке застосування у кондитерській промисловості при виробництві шоколаду з м’якою начинкою. Щоб надати ароматизованій начинці твердості і певну форму, її готують з кристалічної сахарози. Міцеліальні гриби–це філогенетично гетерогенна група еукаріотичних гетеротрофних безхлорофільних організмів. Грибам властиві риси рослинних і тваринних організмів.Всі гриби аероби. Енергію одержуютьза рахунок окиснення органічних сполук. Мікроскопічні міцеліальні гриби (мікроміцети, плісняві гриби) та дріжджі широко використовують у мікробіологічній промисловості. Їх відносять до класу аскоміцетів та дейтероміцетів. Вегетативне тіло більшості грибів складається з тонких розгалужених трубчастих ниток –гіф, об’єднаних у міцелій. Протоплазма гіфів або зовсім не розділена, або розділена поперечними перегородками –септами. Гіфи, що не мають перегородок, називають несептованими, а з перегородками –септованими. Гіфи у більшості нижчих грибів несептовані. У частини нижчих і у всіх вищих грибів міцелій септований. Гриби розмножуються вегетативно, нестатевим та статевим способами. Вегетативне розмноження здійснюється переважно за рахунок різних варіантів фрагментації вегетативного міцелію. До способів вегетативного розмноження відносять також розмноження шляхом утворення артроспор, хламідоспор та бластоспор. Нестатеве розмноження здійснюється спеціалізованими клітинами –спорами, які можуть бути різного типу: ендогенні (зооспори, спорагніоспори) й екзогенні (конідії).

Статеве розмноження у різних груп пліснявих грибів, як і в інших організмів, включає злиття чоловічих і жіночих гамет, після чого утворюється зигота. Еукаріоти включають два важливих роди ґрунтових грибів Penicilliumі Aspergillus(Penicililumchrysogenum, Aspergillusniger). Зустрічаються у вигляді нальоту блакитного, зеленого, сірого, рідше інших кольорів на продуктах рослинного походження. Поширені у верхніх шарах ґрунту.

Хід роботи:
Виготовити, розглянути і зарисувати препарат «роздавлена крапля» з культур дріжджів Saccharomycescerevisiae.
1.На чисте предметне скло нанести краплю води.
2.Прожареною і охолодженою петлею взяти досліджуваний матеріал з культури дріжджів Saccharomycescerevisiae, розподілити його рівномірно у краплі води.
3.На краплю суспензії покласти покривне скло, так щоб під ним не було пухирців повітря. Надлишок рідини відтягуємо смужкою фільтрувального паперу.
4.Розглянути препарат при збільшенні об'єктива 8,10х.
5.Описати форму і розміри клітин, побачене зарисувати

Завдання

1. Приготувати мікроскопічні препарати дріжджів та міцеліальних грибів.
2. Розглянути морфологічні особливості клітин дріжджів (форма, спосіб розмноження).

3. Вивчити будову міцелію грибів та спороносні структури.

4. Описати культуральні властивості колоній на живильних середовищах (форма, колір, консистенція).

5. Зробити замальовки та скласти порівняльну таблицю морфологічних і культуральних властивостей.

Практична інструкція

1. Підготувати предметні скельця та покривні скельця.
2. Нанести краплю суспензії дріжджів, накрити покривним скельцем, розглянути під мікроскопом.

3. Приготувати препарат міцеліальних грибів (зняти частину міцелію з поверхні агарового середовища).

4. Вивчити під малим та великим збільшенням: форму клітин дріжджів, будову гіф, наявність спор.

5. Описати культуральні властивості колоній на агарі:

    - дріжджі — гладкі, кремоподібні;

    - міцеліальні гриби — пухнасті, різнокольорові.

6. Зробити замальовки та скласти висновки.

Порівняльна таблиця: Дріжджі vs Міцеліальні гриби

Ознака	Дріжджі	Міцеліальні гриби
Будова клітини/тіла	Одноклітинні, овальні або округлі	Багатоклітинні, тіло

	клітини	складається з гіф
Спосіб розмноження	Брунькування, поділ, утворення спор	Утворення спороносних структур (спорангії, конідії)
Морфологія під мікроскопом	Окремі клітини, видно ядро, вакуолі	Нитчастий міцелій, септовані або несептовані гіфи
Культуральні властивості	Кремоподібні, гладкі колонії на агарі	Пухнасті, різнокольорові колонії
Функціональні особливості	Використовуються у бродінні, харчовій промисловості	Часто утворюють цвіль, можуть бути патогенними
Приклади	Saccharomyces cerevisiae (пекарські дріжджі)	Aspergillus, Penicillium, Mucor

Тестові завдання

1. Дріжджі — це:
а) Бактерії
б) Одноклітинні гриби
в) Віруси
г) Найпростіші
2. Який спосіб розмноження характерний для дріжджів?
а) Поділ клітини
б) Брунькування
в) Спороутворення
г) Кон’югація
3. Тіло міцеліальних грибів складається з:
а) Окремих клітин
б) Гіф
в) Спор
г) Вакуолей
4. Які культуральні властивості характерні для дріжджів?
а) Пухнасті колонії
б) Кремоподібні, гладкі колонії
в) Зелені колонії
г) Колонії з міцелієм
5. Які культуральні властивості характерні для міцеліальних грибів?
а) Кремоподібні колонії
б) Пухнасті колонії різного кольору
в) Гладкі колонії
г) Колонії без спор
6. Приклад дріжджів:
а) Saccharomyces cerevisiae
б) Aspergillus
в) Penicillium
г) Mucor
7. Приклад міцеліальних грибів:
а) Saccharomyces
б) Aspergillus
в) Candida
г) Cryptococcus

Список використаної літератури

1. Андрєєва О. В. *Мікробіологія: навчальний посібник.* — Київ: Аграрна освіта, 2019.
2. Бойчук Л. В. *Основи мікробіології та вірусології.* — Львів: Світ, 2018.

3. Ковальчук І. М. *Лабораторні роботи з мікробіології.* — Харків: Основа, 2020.

4. Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A. *Microbiology.* — McGraw-Hill, 2017.

5. Madigan M., Martinko J., Bender K. *Brock Biology of Microorganisms.* — Pearson, 2018.

Посилання на вебресурси

- World Health Organization (WHO) – Microbiology (who.int in Bing)
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC) – Fungal Diseases
- Microbiology Society
- PubMed – National Library of Medicine (pubmed.ncbi.nlm.nih.gov in Bing)
- ScienceDirect – Microbiology Journals (sciencedirect.com in Bing)

https://stock.adobe.com/ua/video/highly-detailed-4k-microscopy-video-showcasing-active-cells-of-yeast-saccharomyces-cerevisiae-filmed-at-magnification-of-300-times-where-distinct-granule-shaped-cells-are-clearly-visible-perfect/1854763927

Лабораторна робота № 3
Тема: Вивчення впливу фізичних і хімічних факторів на мікроорганізми. Визначення кількості мертвих дріжджових клітин.
Мета:ознайомитися з основними групами мікроорганізмів, що різняться по відношенню до температури, концентрації водневих іонів та кисню в середовищі, навчитися розрізняти живі та мертві клітини мікроорганізмів.
Теоретична частина.
Життєдіяльність мікроорганізмів більше залежить від умов оточуючого середовища, ніж рослин чи тварин. Це зумовлено їхніми малими розмірами при відносно великій поверхні. Зовнішнє середовище впливає на всі процеси життєдіяльності мікроорганізмів. Фактори зовнішнього середовища можуть діяти позитивно, прискорюючи розмноження і збільшення біомаси мікроорганізмів, або негативно –сповільнюючи ці процеси. Усі чинники зовнішнього середовища, які впливають на розвиток прокаріотів, можна розподілити на три основні групи: - фізичні; - хімічні; -біологічні. До фізичних належать:
- волога: Вода –один з найважливіших компонентів мікробної клітини, вона становить 70–90% складу вегетативної клітини бактерій. Фізіологічна роль води для мікроорганізмів значна: вона є одночасно і середовищем, і реагентом багатьох реакцій обміну, створює оптимальні умови для розчинення мінеральних солей і перенесення метаболітів. Вода виконує фізіологічні функції лише в рідкій фазі, тому біологічна активність її обмежена певними температурними межами, які лежать в інтервалі від -2 до +100оС. Це так звана біокінетична зона.-температура:Важливою умовою культивування мікроорганізмів є температура. За відношенням до цього фактора мікроорганізми поділяються на такі групи: психрофіти розвиваються в межах від 0°С до 20°С, верхня межа –35-45°С; для мезофілів оптимальною є температура 25-37°С, верхня межа –38-45°С; для термофілів оптимальна температура для росту 45-65°С, верхня межа –60-70°С.
Проте виявлено екстремальні термофіли, які розвиваються при температурах,вищих від 100°С. Зсуви температури відносно оптимуму гальмують розвиток мікроорганізмів.-концентрація розчинених речовин; -світло та інші форми променевої енергії; радіохвилі:Вплив різних видів випромінювання на живі мікроорганізми залежить від довжини хвилі, а також інтенсивності і тривалості дії випромінювання. Радіохвилі (понад 400000 нм) не впливають на клітини мікроорганізмів, інфрачервоні промені (800–400000 нм) при поглинанні організмом перетворюються в тепло:-ультразвук.

До хімічних факторів належать: -pH середовища:Одним з найважливіших факторів, які впливають на розмноження мікроорганізмів, є концентрація водневих іонів (pH). pH середовища зумовлює доступність для організму багатьох метаболітів та неорганічних іонів, підтримує стабільність і функції макромолекул в біологічних процесах. Кожен вид мікроорганізмів характеризується оптимальним значенням pH для нормального розвитку. Більшість мікроорганізмів розвивається при нейтральних значеннях pH(нейтрофіли), характерних для багатьох природних середовищ. Дуже високі (кисла реакція) і дуже низькі (лужна реакція) концентрації водневих іонів токсичні для значної кількості мікроорганізмів. Проте існують кислотолюбні (ацидофільні) та лужнолюбні (алкалофільні) мікроорганізми. Більшість грибів і дріжджів, а також деякі бактерії краще розвиваються в слабокислих та кислих середовищах, холерний вібріон –у лужних.-отруйні речовини;-кисень.
До біологічних належать:
- різні типи взаємозв'язків і взаємовідносин між мікроорганізмами;-різні типи взаємозв'язків і взаємовідносини між мікроорганізмами та іншими організмами довкілля (симбіоз, метабіоз, коменсалізм, синергізм, антагонізм, паразитизм тощо)

Завдання № 1 Підрахувати процентний вміст мертвих клітин досліджуваного матеріалу, при нагріванні його на водяній бані за різних температур.
1.Суспензію дріжджів внести у три пробірки по 3 мл в кожну.
Першу пробірку помістити у водяну баню на 10 хвилин при 30° С ;
другу пробірку помістити у водяну баню на 10 хвилин при температурі 45° С ;
третю пробірку помістити у водяну баню на 10 хвилин при температурі 60" С.
2.Приготувати три препарати дріжджів з кожної пробірки по одному; зафарбувати метиленовою синькою. Для цього на предметне скельце нанести краплю суспензії дріжджів. На відстані 1 см нанести краплю метиленової синьки і чистою скляною паличкою перемішати ці краплі.
3.Через 10 хвилин розглянути препарат при збільшенні 600 (об'єктив 40*) в усіх трьох випадках.
4.Підрахувати процентний вміст мертвих клітин, зарисувати і описати побачене.
Завдання № 2. Підрахувати процентний вміст мертвих клітин досліджуваного матеріалу, при дії на нього сульфатної кислоти і води.
1.Суспензію дріжджів внести в три пробірки по 3 мл в кожну. В першу пробірку додати 1 мл води; в другу додати 1 мл 0,01 розчин H2SO 4; в третю пробірку додати 1 мл 0,1 розчин H2SO 4. 2.Приготувати відповідно три препарати дріжджів і зафарбовувати їх метиленовою синькою. Для цього на предметне скельце нанести краплю суспензії дріжджів. На відстані 1 см нанести краплю метиленової синьки і чистою скляною паличкою перемішати ці краплі.
3.Розглянутипрепарати при збільшенні 600 (об'єктив 40*).
4.Підрахувати процентний вміст мертвих клітин в усіх трьох випадках. Зарисувати і описати побачене. Написати висновок.
Матеріали та обладнання: мікроскопи, предметні і покривні скельця, водяна баня, 0,1 розчин сульфатної кислоти, культура дріжджів, термометр, лабораторний посуд, фільтрувальний папір чи марлеві серветки.
Для виконання цієї частини лабораторної роботи використовується методика фарбування клітин індикаторними барвниками, які проникають лише через пошкоджені мембрани мертвих клітин.
1. Визначення кількості мертвих дріжджових клітин
Цей метод базується на здатності живих клітин виштовхувати барвник або розщеплювати його, тоді як мертві клітини забарвлюються інтенсивно.

- *Реактив: 0,01% розчин метиленового синього.*
- **Хід роботи:**
    1. На предметне скло наносять краплю суспензії дріжджів (Saccharomyces cerevisiae).
    2. Додають краплю метиленового синього, перемішують і накривають накривним скельцем.

3. Через 3–5 хвилин мікроскопують на середньому або великому збільшенні.

- **Інтерпретація:**
    - **Живі клітини** — залишаються безбарвними або ледь зеленкуватими.
    - **Мертві клітини** — забарвлюються у синій колір.
- **Розрахунок:** Підраховують кількість синіх клітин у кількох полях зору і вираховують їх відсоток від загальної кількості (наприклад, за допомогою лічильної камери Горяєва

2. Вплив фізичних факторів
Фізичні фактори викликають денатурацію білків та руйнування клітинних структур.

Фактор	**Механізм впливу**	**Результат (візуально)**
Висока температура (кип'ятіння)	Незворотна коагуляція білків цитоплазми.	100% клітин забарвлюються у синій колір.
УФ-випромінювання	Пошкодження ДНК (тимінові димери).	Поступова загибель клітин залежно від експозиції.
Заморожування/Розморожування	Механічне руйнування мембран кристалами льоду.	Поява великої кількості фрагментованих забарвлених клітин.

3. Вплив хімічних факторів
Хімічні речовини (антисептики, дезінфектанти) діють як окиснювачі або руйнівники ліпідного шару.

1. **Спирти (70% етанол):** Обезводнюють клітину та денатурують білки. При мікроскопії більшість клітин стають синіми.
2. **Важкі метали (мідний купорос):** Викликають осадження білків (олігодинамічна дія).
3. **Антибіотики:** Впливають на синтез стінки або обмін речовин (для дріжджів частіше використовують фунгіциди, наприклад, ністатин).

Практичне **завдання** для учня :

1. Порівняйте препарат дріжджів з контрольної групи (кімнатна температура) та препарат, що піддався нагріванню до 80°C.
2. Занесіть дані про кількість забарвлених клітин у таблицю.
3. Зробіть висновок про те, який фактор виявився найбільш згубним.

Для глибшого вивчення процесів рекомендується використовувати цифровий атлас мікробіології, де представлені динамічні моделі загибелі клітин під дією різних чинників. Використовуйте реактиви лабораторної чистоти для отримання достовірних результатів.
Питання для самоконтролю:
1.Які абіотичні екологічні фактори впливають на дріжджі?
2.На які групи поділяються мікроорганізми по відношенню до дії температури?
3.До якої групи належать мікроорганізми по відношенню до температури?
4.До якої групи належать дріжджі по відношенню до температури?
5.Що називається стерилізацією?
6.Які види стерилізації ви знаєте?
7.Що називається пастеризацією?
8.Як проводиться пастеризація?
9.На які групи поділяються мікроорганізми по відношенню до концентрації водневих іонів в середовищі?
10.До якої групи належать дріжджі?

11.Які абіотичні фактори оточуючого середовища належать до найбільш важливих для дріжджів

Список використаної літератури

6. Андрєєва О. В. *Мікробіологія: навчальний посібник.* — Київ: Аграрна освіта, 2019.
7. Бойчук Л. В. *Основи мікробіології та вірусології.* — Львів: Світ, 2018.
8. Ковальчук І. М. *Лабораторні роботи з мікробіології.* — Харків: Основа, 2020.
9. Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A. *Microbiology.* — McGraw-Hill, 2017.
10. Madigan M., Martinko J., Bender K. *Brock Biology of Microorganisms.* — Pearson, 2018.

Посилання на вебресурси

- World Health Organization (WHO) – Microbiology (who.int in Bing)
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC) – Fungal Diseases
- Microbiology Society
- PubMed – National Library of Medicine (pubmed.ncbi.nlm.nih.gov in Bing)
- ScienceDirect – Microbiology Journals (sciencedirect.com in Bing)

https://stock.adobe.com/ua/video/highly-detailed-4k-microscopy-video-showcasing-active-cells-of-yeast-saccharomyces-cerevisiae-filmed-at-magnification-of-300-times-where-distinct-granule-shaped-cells-are-clearly-visible-perfect/1854763927

.